

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
CAMPUS DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

FELIPE DO NASCIMENTO SILVA

**CARACTERÍSTICAS DA FERMENTAÇÃO RUMINAL DA DIETA DE OVINOS  
RECEBENDO BLOCOS MULTINUTRICIONAIS CONTENDO PRÓPOLIS  
VERMELHA**

Rio Largo  
2024

FELIPE DO NASCIMENTO SILVA

**CARACTERÍSTICAS DA FERMENTAÇÃO RUMINAL DA DIETA DE OVINOS  
RECEBENDO BLOCOS MULTINUTRICIONAIS CONTENDO PRÓPOLIS  
VERMELHA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Zootecnia, do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, como parte das exigências para obtenção do título de Bacharel em Zootecnia.

Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Mendes Guimarães Beelen

Rio Largo  
2024

**Catálogo na Fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Campus de Engenharias e Ciências Agrárias**  
Bibliotecário Responsável: Erisson Rodrigues de Santana - CRB4 - 1512

S586c Silva, Felipe do Nascimento.

Características da fermentação ruminal da dieta de ovinos recebendo blocos multinutricionais contendo própolis vermelha. / Felipe do Nascimento Silva. – 2024.

52f.: il.

Orientador(a): Patrícia Mendes Guimarães Beelen.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Zootecnia) – Graduação em Zootecnia, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, 2024.

Inclui bibliografia

1. Modificador ruminal. 2. Própolis. 3. Ruminantes. I. Título.

CDU: 636.2

## Folha de Aprovação

FELIPE DO NASCIMENTO SILVA

### Características da fermentação ruminal da dieta de ovinos recebendo blocos multinutricionais contendo própolis vermelha

Monografia apresentado ao corpo docente do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, como requisito à obtenção do grau de Bacharel em Zootecnia.

Aprovado em: 25/11/2024

Banca Examinadora:



Documento assinado digitalmente  
**PATRICIA MENDES GUIMARAES**  
Data: 25/11/2024 11:07:28-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Patrícia Mendes Guimarães CECA/UFAL (Orientadora)



Documento assinado digitalmente  
**ANGELINA BOSSI FRAGA**  
Data: 25/11/2024 11:31:12-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Angelina Bossi Fraga, CECA/UFAL (Membro)



Documento assinado digitalmente  
**SANDRA ROSELI VALERIO LANA**  
Data: 25/11/2024 23:20:03-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Sandra Roseli Valério Lana, CECA/UFAL (Membro)

Dedico este trabalho a todos os que me ajudaram ao longo desta caminhada, em especial aos meus pais, avós, amigos e orientadora.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, sempre presente, por ter me dado saúde mental e força para superar os obstáculos da vida.

Aos meus pais, Eliane Osório da Silva e Cícero do Nascimento Silva, por todo o amor dedicado, onde me incentivaram a cada momento, proporcionando apoio moral e sustentabilidade financeira durante toda a graduação.

As minhas avós, Marli Osório dos Santos e Maria José do Nascimento Silva, que foram muito solícitas e prezaram a minha educação.

À professora Patrícia Mendes Guimarães Beelen pela orientação, paciência, conselhos e principalmente por acreditar no meu futuro. A senhora, toda a minha admiração.

Aos estagiários Douglas Santos, Ana Beatriz, Juliana Xavier, Iasmin Calaça e Pedro Garcia pela colaboração e disposição no processo de obtenção de dados da pesquisa.

Aos amigos de infância Leilane Ferreira, Gláucia Mendes, Vanessa Oliveira e Katyelle Barbosa pelo apoio, amizade e incentivos que sempre tiveram por mim, e aos amigos da Universidade Karina Leitão, Thamirys Batista, Douglas Santos, Ana Íris, Andreza Caroline e Emilly Valentim que estiveram comigo nessa longa jornada.

A todos os professores do CECA/UFAL, pelos ensinamentos durante a formação acadêmica.

À Universidade Federal de Alagoas (UFAL), pela oportunidade de realização do curso de graduação em Zootecnia, proporcionando todas as ferramentas necessárias que me permitiu chegar hoje ao final desse ciclo.

E a todos que direta e indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado!

“A educação tem raízes amargas, mas os seus frutos são doces.”

**Aristóteles**

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar no objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

**José de Alencar**

## RESUMO

Objetivou-se avaliar a produção de metano e de ácidos graxos de cadeia curta da dieta de ovinos recebendo blocos multinutricionais (BM) contendo própolis vermelha (PV). Foram utilizados quatro ovinos Santa Inês machos, castrados, pesando em média 55 kg e providos de cânulas ruminais. Os animais permaneceram em uma área de capim elefante anão, dividida em piquetes de 30 m<sup>2</sup>, e receberam suplementação alimentar com ou sem PV como aditivo. A suplementação e o aditivo foram fornecidos aos animais em forma de BM, onde tiveram como fontes proteicas o farelo de soja e fontes energéticas o farelo de milho, além de ureia, melaço, minerais e agente solidificante. Os BM do tratamento com própolis receberam 2 ml de extrato de PV purificada e concentrada, equivalente a 0,145 mg de isoflavonóides. A produção de AGCC e CH<sub>4</sub> foram determinadas pela fermentação ruminal *ex situ*. O efeito da adição de PV aos blocos multinutricionais sobre a produção de CH<sub>4</sub> e de AGCC foi analisado por um delineamento em blocos casualizados com a hora da coleta nas parcelas e o tratamento nas subparcelas, com 4 repetições. A inclusão da PV como um aditivo modificador ruminal natural na dieta de ovinos recebendo BM não proporcionou uma menor produção de CH<sub>4</sub>. Não houve diferença significativa para a produção de C<sub>2</sub> e C<sub>4</sub> entre os tratamentos analisados. A adição da PV aumentou a proporção molar do propionato, reduzindo a relação acetato:propionato, além de contribuir no aumento da concentração total dos AGCC. Esses resultados indicam uma grande possibilidade da PV de ser utilizada como um modificador ruminal natural, salientando a necessidade de mais estudos para avaliar a dosagem de PV e viabilidade econômica da utilização de blocos multinutricionais aditivados com PV.

**Palavras Chaves:** modificador ruminal, própolis, ruminantes.



## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the production of methane (CH<sub>4</sub>) and short-chain fatty acids (SCFA) in the diet of sheep receiving multinutritional blocks (MB) containing red propolis (RP). Four male Santa Inês sheep, castrated, weighing an average of 55 kg and equipped with ruminal cannulas were used. The animals remained in an area of elephant grass, divided into 30 m<sup>2</sup> paddocks, and received supplementation with or without RP. The supplementation and additive were provided to the animals in the form of MB, which had soybean meal as protein source and corn bran as energy source, in addition to urea, molasses, minerals and solidifying agent. The MBs treated with propolis received 2 ml of purified and concentrated RP extract, equivalent to 0.145 mg of isoflavonoids. SCFA, CH<sub>4</sub> and N-NH<sub>3</sub> productions were determined by the *ex situ* ruminal fermentation technique. The effect of the addition of RP to the multinutritional blocks on the production of CH<sub>4</sub> and SCFA was analyzed by a randomized block design with the time of collection in the plots and the treatment in the subplots, with 4 replications. The inclusion of RP as a natural ionophore additive in the diet of sheep receiving MB did not lead to a lower production of CH<sub>4</sub>. There was no significant difference in the production of C<sub>2</sub> and C<sub>4</sub> between treatments. The addition of RP increased the molar proportion of propionate, reducing the acetate:propionate ratio, also contributing to the increase in the total concentration of SCFA. These results indicate a great possibility for RP to be used as a natural ruminal modifier, highlighting the need for further studies to evaluate the best dosage and economic viability of using multinutritional blocks with RP additives.

**Keywords:** ruminal modifier, propolis, ruminants.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Formação de acetato pela fermentação bacteriana ruminal (Fonte: OLIVEIRA et al., 2007).....	17
Figura 2. Formação de propionato pela via acrilato (A) e via succinato (B) (Fonte: OLIVEIRA et al., 2007).....	18
Figura 3. Formação do butirato pela fermentação bacteriana ruminal (Fonte: OLIVEIRA et al., 2007).....	19
Figura 4. Ciclo de formação do metano pelas Archaea metanogênicas a partir do CO <sub>2</sub> (Fonte: MACHADO et al., 2011).....	20
Figura 5. Produção de metano em função do tipo de AGCC (Fonte: VAN SOEST, 1994).....	21
Figura 6. Exemplo de Composição (%) dos Blocos Multinutricionais (Fonte: EMEPA, 2013).....	24
Figura 7. Ganho ou perda de peso médio diário (g) de ovinos suplementados ou não com Blocos Multinutricionais (BM) confeccionados com subprodutos de agroindústria e forrageiras nativas do semiárido (Fonte: GOMES, 2018).....	25
Figura 8. Evolução nictemeral do pH ruminal (a) e evolução nictemeral do N-NH <sub>3</sub> ruminal (b) de ovinos recebendo BM confeccionados com subprodutos da agroindústria e plantas nativas do semiárido (Fonte: GOMES, 2018).....	25
Figura 9. Classificação das própolis brasileiras (FONTE: PARK et al., 2000).....	27
Figura 10. Coleta da resina avermelhada de <i>D. ecastophyllum</i> por <i>Apis mellifera</i> africanizada. (A) Secreção de resina de uma Rabo de Bugio. (B) Coleta da resina avermelhada por abelhas africanizadas. (C) Resina coletada alocada em bolsas nas patas traseiras para a para a preparação da própolis (Fonte: DAUGSCH et al., 2008).....	28
Figura 11. Flavonóides e outros constituintes químicos da Própolis Vermelha e da <i>D. ecastophyllum</i> (Fonte: DAUGSCH et al., 2008).....	29
Figura 12. CCDAE e coloração dos extratos etanólicos de 6 amostras da própolis vermelha coletadas nas mesmas regiões. (Fonte: DAUGSCH et al., 2008).....	29
Figura 13. Atividade antimicrobiana das frações da própolis vermelha a 1% (Fonte: JUNIOR et al. 2012).....	30
Figura 14. Animais em pastejo nos piquetes com capim elefante anão (Fonte: Autor, 2018).....	32
Figura 15. Cochos para água (A) e animais consumindo suplementação e o aditivo em forma de BM (B) (Fonte: Autor, 2018).....	33
Figura 16. Homogeneização (A), compactação (B) e produto final dos Blocos Multinutricionais (C) (Fonte: Autor, 2018).....	34
Figura 17. Coleta manual do líquido ruminal via cânula (Fonte: Autor, 2018).....	35

Figura 18. Transferência do líquido ruminal para os frascos de penicilina (A), frascos lacrados com rolhas de borracha e lacre de alumínio (B) e substituição do ar atmosférico por dióxido de carbono (CO <sub>2</sub> ) (C) (Fonte: Autor, 2018) .....	36
Figura 19. “Micro-rúmen” em banho termostático (A) e na panela de pressão (B) (Fonte: Autor, 2018) .....	36
Figura 20. Cromatógrafo a gás modelo CG – Master (Fonte: Autor, 2018).....	37
Figura 21. Efeito dos Blocos Multinutricionais sem a própolis (controle) e dos Blocos Multinutricionais com a inclusão da própolis (própolis) sobre a produção de CH <sub>4</sub> em diferentes horas do dia (Fonte: Autor, 2022) .....	39
Figura 22. Produção de Acetato (C <sub>2</sub> ) em mmol/L em cada horário de coleta, de ovinos recebendo BM contendo ou não PV (Fonte: Autor, 2022).....	42
Figura 23. Produção de Propionato (C <sub>3</sub> ), mmol/L em cada horário de coleta, de ovinos recebendo BM contendo ou não PV (Fonte: Autor, 2022).....	43
Figura 24. Produção de AGCC Totais (C <sub>2</sub> , C <sub>3</sub> e C <sub>4</sub> ) em mmol/L em cada horário de coleta, de ovinos recebendo BM contendo ou não PV (Fonte: Autor, 2022).....	44
Figura 25. Relação entre a produção de acetato e propionato (C <sub>2</sub> :C <sub>3</sub> ), em cada horário de coleta, de ovinos recebendo BM contendo ou não PV (Fonte: Autor, 2022) .....	45

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição de blocos multinutricionais contendo ou não PV como aditivo natural .....	33
Tabela 2. Composição bromatológica da dieta experimental, expressos em porcentagem na matéria seca .....	38
Tabela 3. Efeito da inclusão da Própolis Vermelha na dieta sobre a produção de metano .....	38
Tabela 4. Produção de Ácidos Graxos de Cadeia Curta (proporções, totais e relação) em mmol/L, do conteúdo ruminal após suplementação com BM contendo ou não PV .....	41
Tabela 5. Desdobramento da interação entre os efeitos dos tratamentos e do horário de coleta sobre a concentração molar de C2 no rúmen de ovinos recebendo BM contendo ou não PV .....	42

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGCC	Ácidos Graxos De Cadeia Curta
ATP	Adenosina Trifosfato
BM	Blocos Multinutricionais
BMCP	Blocos Multinutricionais Com Própolis
BMSP	Blocos Multinutricionais Sem Própolis
C2	Acetato
C3	Propionato
C4	Butirato
CCDAE	Cromatografia em Camada Delgada de Alta Eficiência
CH <sub>4</sub>	Metano
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CO <sub>2</sub>	Dióxido de Carbono
EPMA	Erro Padrão Médio
FDA	Fibra em Detergente Ácido
FDN	Fibra em Detergente Neutro
GPD	Ganho de Peso Diário
GRAS	Generally Recognized as Safe
H	Hora
H+	Íons Hidrogênio
H <sub>2</sub> S	Sulfeto de Hidrogênio
HSCoA	Coenzima A
MM	Matéria Mineral
MO	Matéria Orgânica
MS	Matéria Seca
N <sub>2</sub>	Nitrogênio
N-NH <sub>3</sub>	Nitrogênio Amoniacal
O <sub>2</sub>	Oxigênio
PB	Proteína Bruta
pH	Potencial Hidrogeniônico
PV	Própolis Vermelha

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1. Fermentação Ruminal .....	16
2.1.1. Ácidos Graxos de Cadeia Curta .....	16
2.1.2. Acetato .....	17
2.1.3. Propionato .....	18
2.1.4. Butirato .....	19
2.1.5. Produção de Metano .....	19
2.1.6. Manipulação da Fermentação Ruminal .....	21
2.2. Regulamento (CE) Nº 1831/2003 do Parlamento Europeu e do Conselho de 22 de setembro de 2003 .....	22
2.3. Blocos Multinutricionais.....	23
2.4. Própolis .....	26
2.4.1. Própolis vermelha .....	28
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	32
3.1. Confecção dos Blocos Multinutricionais.....	33
3.2. Extrato seco da Própolis vermelha.....	34
3.3. Estudo <i>ex situ</i> .....	34
3.4. Mensurações do CH <sub>4</sub> e dos AGCC .....	37
3.5. Estudo estatístico .....	37
4. RESULTADO E DISCUSSÃO .....	38
5. CONCLUSÃO .....	46
REFERÊNCIAS .....	47

## 1. INTRODUÇÃO

A criação de ruminantes, em um contexto mundial, tem recebido importante destaque, não só por sua colaboração na alimentação da população que vem crescendo intensamente, mas também porque esses animais são responsáveis pela emissão de gases de efeito estufa como o metano (CH<sub>4</sub>) e o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). Sabe-se que pecuária é uma atividade emissora majoritariamente de CH<sub>4</sub>, oriundo da fermentação entérica dos ruminantes. (PEREIRA et al., 2006; FIGUEIREDO et al., 2023).

A redução na emissão desses produtos tem concentrado os esforços dos pesquisadores, pois, além de aumentar a eficiência de conversão dos nutrientes consumidos em produtos, ajuda a reduzir o impacto dos sistemas de produção no ambiente.

Vários trabalhos tentam estabelecer adequada produção desses compostos, através de alterações na composição da dieta ou pelo uso de aditivos alimentares, a exemplo dos tampões, ionóforos, enzimas fibrolíticas, leveduras, lipídios e extratos naturais de plantas (LEOPOLDINO, 2004; OLIVEIRA, 2005; OLIVEIRA et al., 2005; GOLÇALVES et al., 2012, OSTRENSKY et al., 2024).

Um dos métodos de manipulação da fermentação ruminal mais utilizados consiste na inibição das bactérias Gram-positivas com a utilização de ionóforos (COSTA, 2015).

Os ionóforos são moléculas solúveis em lipídios que transportam íons através da membrana celular, agindo na permeabilidade da membrana. As bactérias gram-positivas são sensíveis à ação dos ionóforos por apresentar apenas uma membrana celular (MARINO & MEDEIROS, 2015).

O efeito dos ionóforos deve-se à alteração na fermentação ruminal pela seleção de bactérias gram-negativas, com alterações na proporção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e na concentração de nitrogênio amoniacal, processos chaves que afetam diretamente o metabolismo de energia e proteína do animal (MARINO & MEDEIROS, 2015.). A utilização de aditivos dietéticos para ruminantes objetiva também diminuir a formação de metano gerado durante a eructação e liberado para o

meio ambiente, responsável pela perda de 2% a 12% da energia do alimento (SALMAN et al., 2006; OLIVEIRA, 2017; NUNES, 2023).

Devido às exigências impostas pelos consumidores e mercados importadores dos produtos de origem animal, o uso de ionóforos na alimentação animal está, cada vez mais, sendo rejeitado devido à possibilidade de aparecimento de resíduos e bactérias resistentes (PERNA JUNIOR, 2013). Por esta razão, os pesquisadores têm se interessado em avaliar alternativas para modular a fermentação ruminal.

Há uma série de compostos naturais com propriedades em potencial para ser utilizados como aditivos na nutrição de ruminantes. Entre eles podemos citar os extratos naturais de plantas, como taninos, saponinas e óleos essenciais, e o uso da própolis.

Própolis é uma substância resinosa produzida por abelhas através da coleta de extratos vegetais misturados à cera, pólen e enzimas secretadas pelos próprios insetos; seus componentes são reconhecidos como GRAS (*Generally Recognized As Safe* = Geralmente Reconhecida como Segura) (BURDOCK, 1998).

A própolis vermelha, caracterizada como o 13º tipo de própolis brasileira, é a primeira própolis identificada como oriunda de uma planta leguminosa, conhecida como Rabo de Bugio (*Dalbergia ecastophyllum*), vegetal encontrado em manguezais do litoral alagoano (SILVA et al., 2008).

A própolis vermelha se destaca das demais própolis devido aos seus compostos benéficos, entre eles os flavonoides, compostos fenólicos provenientes de plantas que agem em diferentes processos fisiológicos e exercem função antimicrobiana e antioxidante.

Por tanto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a produção de Metano e de Ácidos Graxos de Cadeia Curta da dieta de ovinos recebendo Blocos Multinutricionais contendo Própolis vermelha como aditivo natural.



## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Fermentação Ruminal**

A fermentação e síntese de nutrientes no rúmen são realizadas pelos diferentes microrganismos existentes no ambiente ruminal (ACOSTA, 2018). O rúmen é considerado um ecossistema microbiano diverso, composto por três tipos de microrganismos: bactérias, protozoários e fungos, sendo as bactérias constituintes de 60 a 90% da biomassa microbiana com cerca de 200 espécies (KOZLOSKI, 2002; RIVERA, 2010).

Os microrganismos ruminais oferecem ao ruminante a capacidade de aproveitar a maioria dos complexos polissacarídeos vegetais e fontes de nitrogênio não proteico, obtendo energia e proteína via produção de ácidos graxos de cadeia curta e síntese de proteína microbiana (VAN SOEST, 1994; ALVES, 2019). Os produtos finais da fermentação, bem como a taxa de crescimento da microbiota, estão estritamente relacionados ao pH ruminal.

Os processos de ingestão e ruminação estimulam a produção de saliva, produto rico em íons, minerais, sódio, fosfato e bicarbonato, pelas glândulas salivares, neutralizando os ácidos produzidos durante a fermentação. O poder tamponante da saliva ajuda a manter um ambiente aceitável para o crescimento de bactérias, mantendo pH por volta de 6,7.

Segundo Williams (1986), os protozoários do rúmen são mais sensíveis que as bactérias e podem até mesmo vir a desaparecer se o pH ultrapassar 7,8 ou decrescer abaixo de 5, embora as espécies bacterianas tenham seu crescimento reduzido em pH menor que 5.

Todo o processo de ruminação reduz o tamanho das partículas dos alimentos, aumentando a função microbiana, permitindo uma passagem mais fácil para os outros compartimentos do estômago. Os principais produtos finais da fermentação são os Ácidos Graxos de Cadeia Curta (acético, propiônico, butírico), amônia, células microbianas e CH<sub>4</sub> (ZOTTI & PAULINO, 2009).

#### **2.1.1. Ácidos Graxos de Cadeia Curta**

A principal fonte de energia para os ruminantes são os ácidos graxos de cadeia curta produzidos no rúmen pela fermentação microbiana de carboidratos e, em alguns

casos, da proteína, sendo o acético (C2), propiônico (C3) e butírico (C4) os principais ácidos (BERCHIELLI et al., 2006; GOULARTE et al., 2011). A absorção ruminal dos AGCC, em um contexto quantitativo, é o trajeto mais importante dos nutrientes nos ruminantes (STORM et al., 2012).

Segundo Oliveira et al. (2007), o piruvato, formado através do catabolismo de açúcares pelas bactérias ruminais, é o principal metabólico intermediário no rúmen. A partir do piruvato várias rotas diferentes podem ser utilizadas até a formação dos produtos finais da fermentação (CHURCH, 1979; HOBSON & STERWAT, 1997; OLIVEIRA et al., 2007).

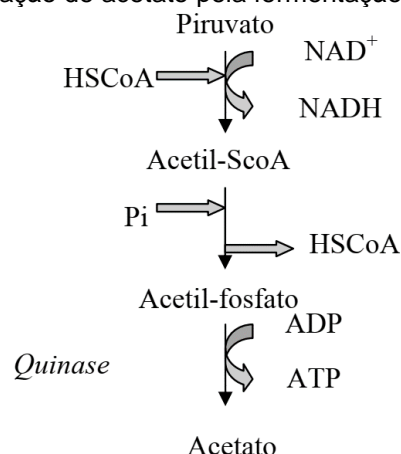
A conversão dos carboidratos, fermentados pela população microbiana do rúmen, podem variar de 60 a 70% de ácido acético, 18 a 22% de ácido propiônico, 13 a 16% de ácido butírico (TEIXEIRA & TEIXEIRA, 2001; DEHORITY, 1987).

### 2.1.2. Acetato

Segundo Kozloski (2002), o acetato é o produto menos reduzido entre os produtos oriundos da fermentação ruminal, onde a sua formação irá determinar o máximo de rendimento de ATP para a população bacteriana.

Na formação de acetato, a molécula de piruvato é degradada a acetil-SCoA e  $\text{CO}_2$  (CHURCH, 1979; SILVA, 1979). A oxidação completa de uma molécula de glicose para acetato resulta na formação de dois acetatos e quatro moléculas de ATP (OLIVEIRA et al., 2007). A formação de acetato, a partir de piruvato na fermentação bacteriana, pode ser observada na figura 1.

Figura 1. Formação de acetato pela fermentação bacteriana ruminal

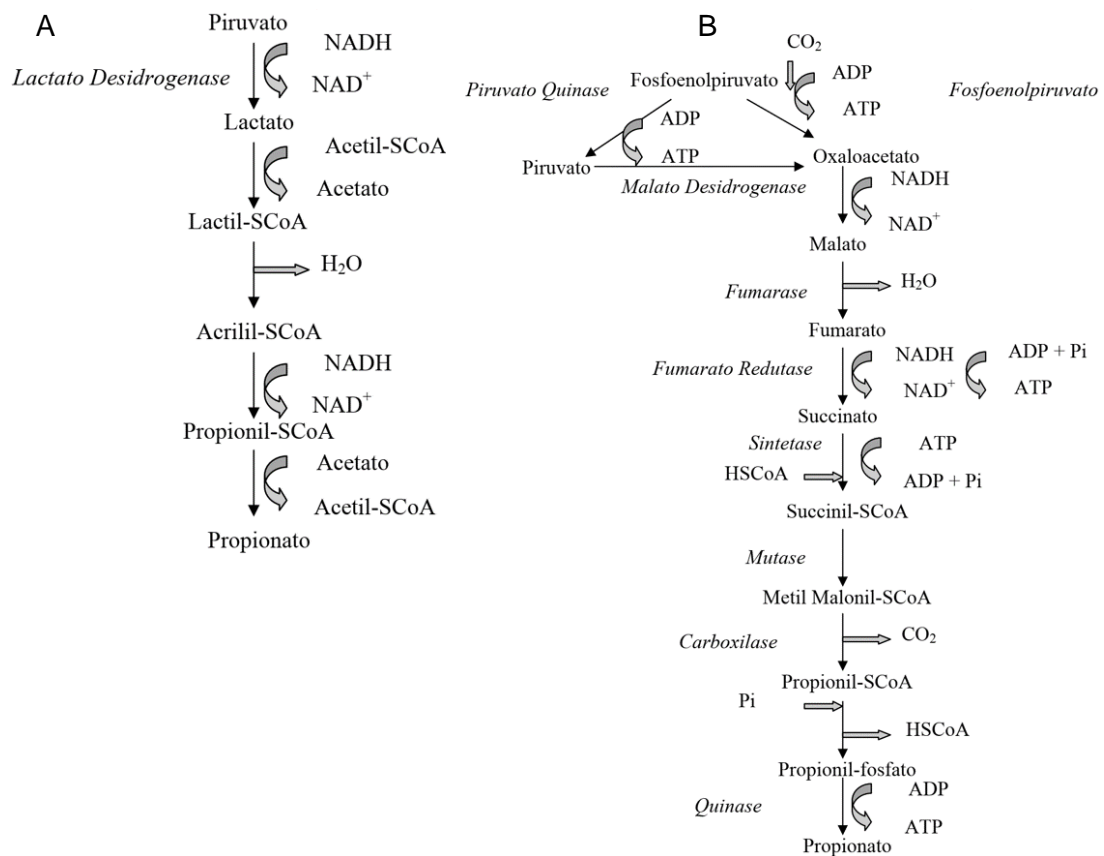


Fonte: OLIVEIRA et al. (2007)

### 2.1.3. Propionato

O propionato é o produto da fermentação ruminal que contribui para a síntese de glicose nos ruminantes, servindo como energia para o animal (SWENSON, 1996). O propionato pode ser formado por duas rotas diferentes: a do acrilato (Figura 2a) ou do succinato (Figura 2b).

Figura 2. Formação de propionato pela via acrilato (A) e via succinato (B)



Fonte: OLIVEIRA et al. (2007)

Na rota succinato, principal via de formação do propionato pelas bactérias, o piruvato e o fosfoenolpiruvato são convertidos a fumarato, gerando um ATP pela ação da enzima fumarato redutase. Após a formação do metil-malonil-CoA, pela ação de uma transferase, e após a catalização da mutase, será perdida uma molécula de CO<sub>2</sub>, liberando a Coenzima A (HSCoA), e formando o propionato (VAN SOEST, 1994).

A formação de propionato pela rota do acrilato não envolve síntese de ATP (OLIVEIRA et al., 2007). Algumas bactérias não são hábeis a descarboxilar o

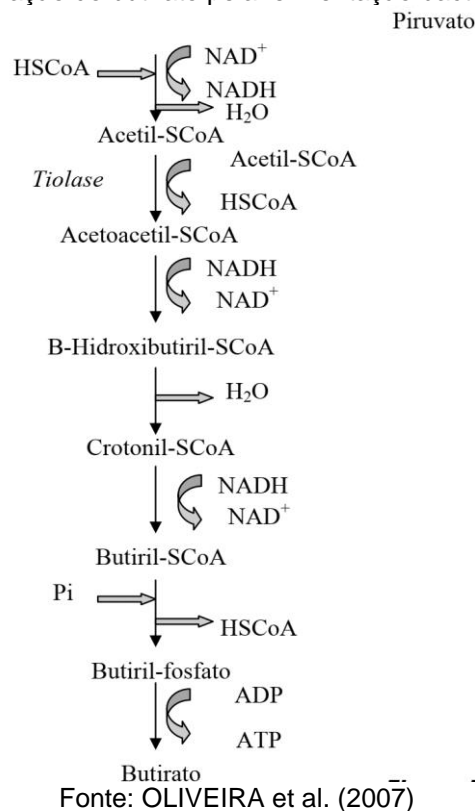
succinato, gerando propionato a partir dessa via. As bactérias produzem propionato por esta rota metabólica a partir de lactato liberado no rúmen por outras espécies (OLIVEIRA, 2007; KOZLOSKI, 2002; VAN SOEST, 1994).

#### 2.1.4. Butirato

Segundo Oliveira (2007), muitas espécies de bactérias produzem butirato, mas existem algumas espécies de bactérias ruminais que são especialmente produtoras deste AGCC, onde a síntese não é influenciada pela pressão de  $H_2$ .

Na formação do butirato, o piruvato, convertido a acetil coenzima A, é reduzido, desidratado e reduzido novamente, sendo, em seguida, substituído por um grupamento fosfato, onde sofrerá uma desfosforilação, liberando um ATP e o butirato como produto final (CHURCH, 1979; SILVA, 1979; KOZLOSKI, 2002) (figura 3).

Figura 3. Formação do butirato pela fermentação bacteriana ruminal



#### 2.1.5. Produção de Metano

A fermentação ruminal também gera substâncias que não são utilizadas pelo animal, e serão eliminadas, via eructação, resultando em perda energética (OLIVEIRA

et al., 2013; VAN SOEST, 1994). As principais substâncias não aproveitadas pelo metabolismo do animal são o metano (CH<sub>4</sub>), o gás carbônico (CO<sub>2</sub>) e íons hidrogênio (H<sup>+</sup>) (PINTO et al., 2019; VAN SOEST, 1994).

O CH<sub>4</sub> oriundo da fermentação ruminal é produzido na concentração de 30% a 40%, juntamente com CO<sub>2</sub> (60%), nitrogênio (N<sub>2</sub>), sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S), hidrogênio (H<sub>2</sub>) e oxigênio (O<sub>2</sub>). A proporção de cada produto depende da espécie bacteriana, da dieta e principalmente da concentração de NADH e H<sub>2</sub> na célula (OLIVEIRA et al., 2013; KOZLOSKI, 2002; VALADARES FILHO & PINA, 2006).

O metano entérico é derivado da atividade das Archaea metanogênicas, um grupo microbiano distinto das Eukarya (protozoários e fungos) e Bacteria, possuindo cofatores (coenzima M, F420 e F430) e lipídeos (ésteres de isopranyl glicerol) únicos. O H<sub>2</sub> produzido durante a fermentação microbiana do alimento é usado como fonte de energia pelas Archaea metanogênicas, que produzem CH<sub>4</sub> (MACHADO et al., 2011). Segundo Hungate et al. (1970), o formato também pode ser utilizado pelas metanogênicas como precursor do metano, contribuindo com aproximadamente 18% da produção de CH<sub>4</sub>.

A formação do metano pelas Archaea metanogênicas a partir do CO<sub>2</sub> envolve a captação de quatro moléculas de H<sub>2</sub>:

Figura 4. Ciclo de formação do metano pelas Archaea metanogênicas a partir do CO<sub>2</sub>

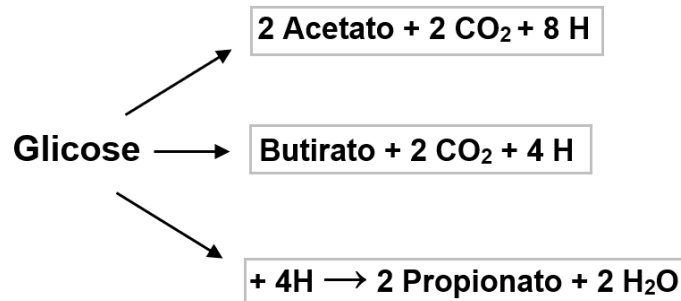


Fonte: MACHADO et al. (2011)

A produção de metano não é equivalente para todos os AGCC produzidos, pois ocorrem liberações diferentes de H<sub>2</sub> em função do comprimento de cada cadeia (figura 5), sendo influenciada pelas taxas de produção de acetato e propionato (VAN SOEST, 1994).

A produção de C<sub>2</sub> e C<sub>4</sub>, predominante durante a fermentação de carboidratos fibrosos, resulta em liberação líquida de H<sub>2</sub> e favorece a metanogênese. Já a formação de C<sub>3</sub> é uma via competitiva de utilização de H<sub>2</sub> no rúmen, reduzindo a disponibilidade de substrato para a metanogênese (MACHADO et al., 2011).

Figura 5. Estequiometria da transformação da glicose e potencial produção de metano em função do tipo de AGCC formado



Fonte: VAN SOEST (1994)

### 2.1.6. Manipulação da Fermentação Ruminal

A manipulação da fermentação ruminal possui o objetivo de controlar alguns processos metabólicos no rúmen, a partir de pesquisas na área de microbiologia ruminal, atingindo assim a utilização mais eficiente dos nutrientes e a redução do impacto dos sistemas de produção no ambiente (NAGARAJA, 2003; POSSAMAI, 2011). A manipulação direta do rúmen, relacionada com o uso de aditivos, modificam a fermentação ao terem efeito sobre a microbiota ruminal (RIVERA et al., 2010; DOMINGUEZ & ESCOBAR, 1997).

A utilização de aditivos dietéticos para ruminantes objetiva aumentar a formação de ácido propiônico, diminuir a formação de metano e reduzir a proteólise e desaminação da proteína dietética no rúmen (SALMAN et al., 2006). Dentre os aditivos liberados no Brasil e utilizados em ruminantes, tem-se os tampões, ionóforos, enzimas fibrolíticas, leveduras, lipídios, própolis, entre outros (OLIVEIRA et al., 2005).

Rivera (2010), ao avaliar o efeito do uso de monensina, complexo de leveduras, ácidos graxos poli-insaturados e aminoácidos nos parâmetros de fermentação ruminal (pH, concentração de nitrogênio amoniacal e de ácidos graxos de cadeia curta), em bovinos alimentados com feno de capim-tifton 85, observou que a relação acetato:propionato nos animais alimentados com a dieta com monensina foi menor que naqueles que receberam o complexo de leveduras e ácidos graxos poli-insaturados e aminoácidos, diminuindo a perda de energia na forma de metano.

Rivera ainda relata que o pH e o nitrogênio amoniacal permaneceram na faixa ideal para manter a atividade dos microrganismos ruminais.

Ao realizar experimentos com animais em pastejos para observar os efeitos da monensina (50 a 200mg por animal/dia), sobre o padrão de Ácidos Graxos de Cadeia Curta, Stewart (1982) verificou que a concentração de AGCC não foram alteradas. Em contrapartida, os resultados mostraram que a porcentagem molar de ácido acético diminuiu e a do ácido propiônico aumentou, reforçando a eficiência de aditivos em controlar processos metabólicos no rúmen.

No entanto, os países membros da União Europeia, tomando como estratégia o combate às ameaças à saúde de humanos, animais e plantas causadas pela resistência microbiana aos antibióticos, proibiram o uso de todos os aditivos promotores de crescimento em animais (EC, 2003).

## **2.2. Regulamento (CE) Nº 1831/2003 do Parlamento Europeu e do Conselho de 22 de setembro de 2003**

Por intermédio do Artigo 5 do Regulamento (CE) nº 1831/2003, referente as condições de autorização do uso de aditivos, é proibida a concessão de autorizações a aditivos para a alimentação animal, a menos que o requerente da autorização tenha demonstrado de forma suficiente e adequada que satisfaz os requisitos do nº 2 e tem pelo menos uma das características enunciadas no nº 3 do artigo.

Segundo os requisitos exigidos no nº 2 do artigo 5, o aditivo para a alimentação animal não deve:

- a) Ter um efeito adverso sobre a saúde animal ou humana ou o ambiente;
- b) Ser apresentado de uma forma que possa induzir o utilizador em erro;
- c) Prejudicar o consumidor por alterar as características distintivas dos produtos de origem animal ou induzir o consumidor em erro quanto às características distintivas dos produtos de origem animal.

No requisito de nº 3, o aditivo para a alimentação animal deve:

- a) Alterar favoravelmente as características dos alimentos para animais;
- b) Alterar favoravelmente as características dos produtos de origem animal;

- c) Alterar favoravelmente a cor dos peixes e aves ornamentais;
- d) Satisfazer as necessidades nutricionais dos animais;
- e) Influenciar favoravelmente as consequências da produção animal sobre o ambiente;
- f) Influenciar favoravelmente a produção, o rendimento ou o bem-estar dos animais, influenciando particularmente a flora gastrointestinal ou a digestibilidade dos alimentos para animais;
- g) Produzir um efeito coccidiostático ou histomonostático.

O regulamento ainda afirma no artigo 5 que os antibióticos que não sejam coccidiostáticos ou histomonostáticos, não são autorizados como aditivos para a alimentação animal.

Mediante as restrições do uso de antibióticos, tem-se oferecido alternativas para aumentar a eficiência de utilização das dietas consumidas pelos ruminantes, como é o caso da Própolis Vermelha, podendo ser ministrados aos animais através dos Blocos Multinutricionais.

### **2.3. Blocos Multinutricionais**

Os Blocos Multinutricionais (BM) são uma fonte sólida de suplementação estratégica, que fornecem energia, nitrogênio e minerais, compensando em parte o déficit nutricional dos rebanhos durante a época da seca, pois incrementam o aporte de nutrientes para os animais pelo consumo restringido de uma mistura de ingredientes compactados, de modo a fornecer nutrientes gradativamente ao longo do dia e aumentam a ingestão e digestão de alimentos de baixa qualidade. Outros benefícios que os BM proporcionam são: a melhoraria no desempenho produtivo e reprodutivo do rebanho, a facilitação no manejo e a minimização no risco de intoxicação dos animais com ureia. (EMEPA, 2013).

Os blocos, geralmente, são compostos por fontes proteicas, seja ela farelos de soja e de algodão; fontes energéticas como milho, sorgo e mandioca; minerais; feno de forrageiras; ureia como principal fonte de nitrogênio não proteico; melação e agentes solidificantes (bentonina, cal hidratada ou cimento) (figura 6).



Figura 6. Exemplo de Composição (%) dos Blocos Multinutricionais

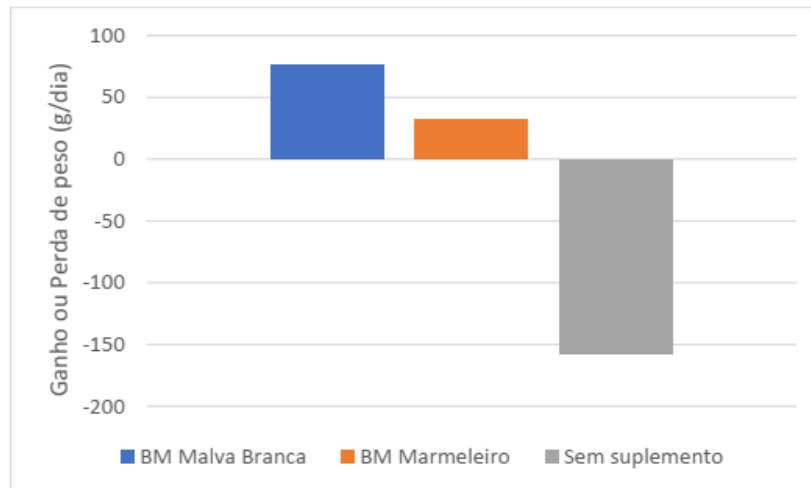
<b>Ingredientes</b>	<b>(%)</b>
Ureia pecuária	5,0
Melaço	20,0
Sal comum	10,0
Cal hidratado	10,0
Suplemento mineral	6,0
Fonte proteica	20,0
Fonte energética	26,0
Calcário calcítico	3,0
<b>Total</b>	<b>100</b>

Fonte: EMEPA (2013)

Segundo Castro et al. (2017), os Blocos Multinutricionais têm sido considerados um suplemento alimentar promissor para a produção de pequenos ruminantes, seja pelo seu baixo custo de produção, pela utilização de recursos locais em sua confecção e por não competirem com a alimentação humana.

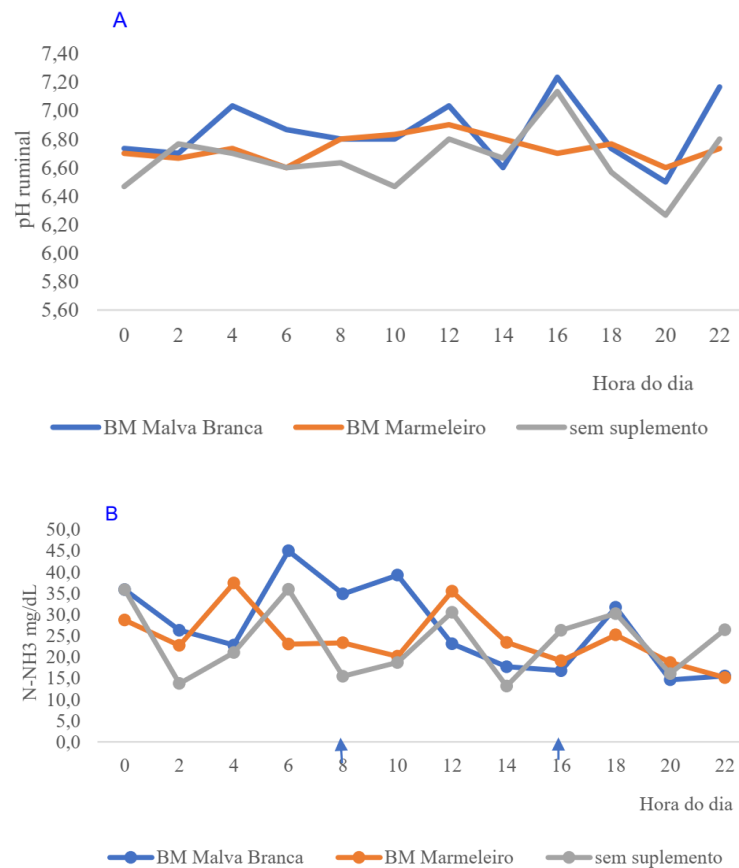
Gomes (2018), ao estudar o consumo, degradabilidade e o padrão de fermentação ruminal dos blocos multinutricionais confeccionados com subprodutos da agroindústria alagoana em ovinos Santos Inês, concluiu que a ingestão dos BM aumentou o consumo de nutrientes da dieta e conseqüente ganho de peso dos animais, observando que os animais suplementados ganharam peso, enquanto os não suplementados perderam peso durante o experimento (figura 7). Gomes ainda complementa que a utilização de blocos não proporcionou quedas bruscas no pH (figura 8a), já que os valores médios de pH estiveram próximos da faixa aceitável para o máximo crescimento microbiano, e as concentração de amônia foram superiores a 15 mg/dL de N-NH<sub>3</sub> (figura 8b), provavelmente devido à lenta liberação de ureia presente nos blocos, promovendo um melhor funcionamento ruminal.

Figura 7. Ganho ou perda de peso médio diário (g) de ovinos suplementados ou não com Blocos Multinutricionais (BM) confeccionados com subprodutos de agroindústria e forrageiras nativas do semiárido



Fonte: GOMES (2018)

Figura 8. Evolução nictemeral do pH ruminal (a) e evolução nictemeral do N-NH<sub>3</sub> ruminal (b) de ovinos recebendo BM confeccionados com subprodutos da agroindústria e plantas nativas do semiárido



Fonte: GOMES (2018)

Outros estudos mostram resultados relevantes da utilização de blocos multinutricionais nas dietas de ruminantes. Ao avaliar o efeito de níveis de melaço nos blocos multinutricionais sobre o consumo, desempenho, parâmetros sanguíneos e indicadores econômicos na dieta de cordeiros, Almeida (2018), observou que 200 g/kg MS de melaço de cana-de-açúcar no BM promoveu um melhor desempenho para cordeiros Santa Inês confinados, sem interferir na ingestão de alimentos e foi mais viável do ponto de vista biológico e econômico.

#### **2.4. Própolis**

A própolis, substância resinosa produzida pelas abelhas através de coletas de extratos vegetais, é constituída de, aproximadamente, 50-60% de resinas e bálsamos aromáticos, 30-40% de ceras, 5-10% de óleos essenciais e até 5% de outras substâncias. Estão presentes ainda microelementos como alumínio, cálcio, estrôncio, ferro, cobre, manganês, magnésio, silício, titânio, bromo, zinco e vitaminas B1, B2, B6, C e E (GHISALBERTI, 1979; PEREIRA et al., 2015), sendo seus componentes reconhecidos como GRAS (*Generally Recognized As Safe* = Geralmente Reconhecida como Segura) (BURDOCK, 1998), determinando que a própolis adicionada a outros alimentos é considerado seguro por pesquisadores, seja ela no âmbito alimentar de humanos ou de animais.

Vários estudos mostram resultados positivos da utilização de própolis na alimentação de ruminantes. Heimbach et al. (2014), ao utilizarem diferentes níveis de inclusão do resíduo da extração de própolis marrom, verificou que 13,88 g/kg MS de resíduo da extração de própolis apresentou efeito significativo sobre a digestibilidade *in vitro* da matéria seca, proteína bruta, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido da dieta, mostrando a eficiência da própolis em proporcionar uma melhor digestibilidade dos nutrientes.

Ao avaliar os efeitos de produtos à base de própolis em duas concentrações e duas extrações alcoólicas na dieta à base de forragem sobre o consumo, a digestibilidade e as características ruminais de bubalinos, Prado et al. (2010), observaram que a adição de própolis nas dietas à base de forragem para búfalos proporcionou uma maior concentração de energia digestível aparente e promoveu aumento no fluxo de proteína chegando ao intestino. Observou também que os produtos contendo própolis aumentaram a digestibilidade total e intestinal dos

componentes nutritivos. Segundo Kumazawa et al. (2004), a composição de uma própolis é determinada pela distribuição dos vegetais na superfície terrestre, bem como as causas dessa distribuição e dos elementos constituintes do meio biológico que circundam a colmeia, podendo variar sazonalmente em uma mesma localidade. Estudos que abordam o efeito da sazonalidade são muito importantes para a caracterização da matéria-prima de uma determinada região, uma vez que características climáticas também se diferenciam em função da região onde o produto natural é obtido (SIMOES-AMBROSIO et al., 2010; PEREIRA et al., 2015).

No Brasil, devido a sua rica biodiversidade, a própolis é bastante diversificada em composição química (SILVA et al., 2008). Após o processamento e análise de extratos etanólicos de própolis quanto a aparência e coloração, o espectro de absorção na região do UV-visível e o perfil da cromatografia em camada delgada de alta eficiência (CCDAE) e da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), Park et al. (2000), classificaram a própolis brasileira em 12 tipos distintos (figura 9).

Figura 9. Classificação das própolis brasileiras

<b>Extrato Etanólico de Própolis</b>			
<b>Grupos</b>	<b>Cor</b>	<b>Substâncias Solúveis (%)</b>	<b>Origem da própolis</b>
Grupo 1 (RS5)	Amarelo	63,0	Região Sul
Grupo 2 (RS1)	Castanho claro	57,5	Região Sul
Grupo 3 (PR7)	Castanho escuro	65,0	Região Sul
Grupo 4 (PR8)	Castanho claro	54,5	Região Sul
Grupo 5 (PR9)	Marrom esverdeado	58,7	Região Sul
Grupo 6 (BA11)	Marrom avermelhado	45,9	Região Nordeste
Grupo 7 (BA51)	Marrom esverdeado	43,8	Região Nordeste
Grupo 8 (PE5)	Castanho escuro	41,3	Região Nordeste
Grupo 9 (PE3)	Amarelo	46,7	Região Nordeste
Grupo 10 (CE3)	Amarelo escuro	24,1	Região Nordeste
Grupo 11 (PI1)	Amarelo	23,1	Região Nordeste
Grupo 12 (SP12)	Verde ou Marrom esverdeado	61,0	Região Sudeste

FONTE: PARK et al. (2000)

No entanto, mais recentemente, foi identificado um novo tipo de própolis brasileira. Neste estudo, é apresentado um tipo de própolis, coletada no Nordeste do

Brasil, com coloração vermelha intenso, onde sua composição química difere dos 12 tipos de própolis brasileira classificados por Park et al. (2000). De acordo com os resultados do perfil químico obtido por CLAE, foi possível observar a presença de isoflavonóides, como isosativan e medicarpina, nas amostras da própolis vermelha, compostos fenólicos típicos da família das leguminosas (SILVA et al., 2008).

#### 2.4.1. Própolis vermelha

A Própolis Vermelha (PV), caracterizada como o 13° tipo de própolis brasileira, apresenta coloração vermelho intenso, e é coletada nas regiões do nordeste ligadas ao ecossistema de mangues (RIBEIRO et al., 2014). É a primeira própolis identificada como oriunda de uma planta leguminosa, conhecida como Rabo de Bugio (*Dalbergia ecastophyllum*), vegetal encontrado em manguezais do litoral alagoano (SILVA et al., 2008). Sua coloração é devido a presença de uma resina avermelhada liberada pela leguminosa e coletado pelas abelhas para a preparação da própolis (figura 10).

Figura 10. Coleta da resina avermelhada de *D. ecastophyllum* por *Apis mellifera* africanizada. (A) Secreção de resina de uma Rabo de Bugio. (B) Coleta da resina avermelhada por abelhas africanizadas. (C) Resina coletada alocada em bolsas nas patas traseiras para a para a preparação da própolis



Fonte: DAUGSCH et al. (2008)

A Própolis Vermelha se destaca das demais própolis devido aos seus compostos benéficos, entre eles os flavonoides, compostos fenólicos provenientes de plantas que agem em diferentes processos fisiológicos e exercem função antimicrobiana e antioxidante.

Daugsch et al. (2008), ao estudar a composição química e origem botânica da PV de cinco estados do Nordeste do Brasil (Bahia, Sergipe, Alagoas, Pernambuco e Paraíba), observaram que todas as amostras das própolis analisadas apresentaram flavonóides e outros constituintes químicos presentes na planta *D. ecastophyllum* (figura 11). Ao mesmo tempo, amostras oriundas do mesmo Estado poderiam

apresentar constituintes químicos semelhantes em concentrações bastante diferentes (figura 12), indicando que a origem botânica dessas amostras é a mesma, mas a concentração de flavonóides e outros constituintes químicos podem variar de acordo com a escassez ou ausência da planta Rabo de Bugio na localidade.

Figura 11. Flavonóides e outros constituintes químicos da Própolis Vermelha e da *D. ecastophyllum*

Peak	Retention time (min)	Compound	Propolis <sup>†</sup> Content (mg/g)	<i>D. ecastophyllum</i> <sup>‡</sup> Content (mg/g)
1	13.42	Rutin	0.7	1.3
2	16.99	Liquiritigenin	1.8	7.1
3	20.63	Daidzein	0.3	4.3
4	22.35	Pinobanksin	1.7	6.0
5	23.84	UV $\lambda$ 251, 292 nm <sup>‡</sup>	+	+
6	24.59	Quercetin	0.5	1.9
7	28.40	Luteolin	1.2	2.1
8	30.46	UV $\lambda$ 241, 272, 282 nm <sup>‡</sup>	+	+
9	32.15	Dalbergin	0.4	0.9
10	34.62	Isoliquiritigenin	4.8	12.1
11	36.97	Formononetin	10.2	19.5
12	39.28	UV $\lambda$ 235, 263 nm <sup>‡</sup>	+	+
13	40.08	Pinocembrin	3.3	7.1
14	42.30	Pinobanksin-3-acetate	1.7	2.6
15	46.45	Biochanin A	0.5	1.5
16	55.96	UV $\lambda$ 238, 260, 269 nm <sup>‡</sup>	+	+
17	60.53	UV $\lambda$ 233, 249, 329 nm <sup>‡</sup>	+	+
18	63.43	UV $\lambda$ 233, 256 nm <sup>‡</sup>	+	+

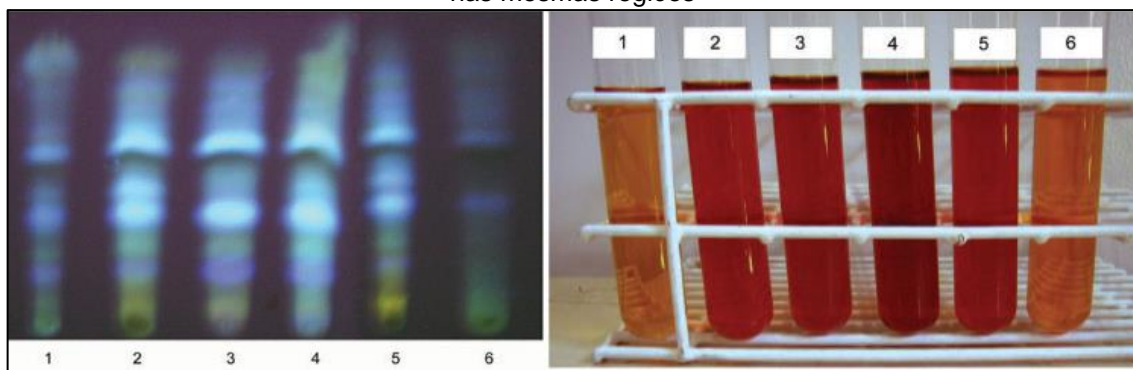
<sup>†</sup>Quantity of constituents in mg/g of propolis and *D. ecastophyllum*.

Symbols: '+' means present, but not quantified.

<sup>‡</sup>Unidentified constituents represent only UV spectral absorption maximum.

Fonte: DAUGSCH et al. (2008)

Figura 12. CCDAE e coloração dos extratos etanólicos de 6 amostras da própolis vermelha coletadas nas mesmas regiões



Fonte: DAUGSCH et al. (2008)

Estudos nas áreas médicas e veterinárias têm sido realizados sobre as propriedades antimicrobiana dos extratos da própolis, apontando uma eficiente atividade em relação as bactérias, principalmente as gram-positivas, que demonstraram ser mais sensíveis que as bactérias gram-negativas (PINTO et al., 2001). Bastos et al. (2008), ao avaliar a atividade antibacteriana da própolis vermelha, verificaram que o extrato obtido das regiões do Brasil possui melhor ação biológica em comparação aos resultados obtidos com extratos de própolis dos Estados Unidos da América.

Uma maior atividade antibiótica da própolis está relacionada à presença de compostos fenólicos, como os flavonoides, na sua composição, demonstrando que uma maior concentração desses compostos determina uma maior atividade antibacteriana (CASTRO et al., 2007).

Junior et al. (2012), ao avaliar a atividade antimicrobiana do extrato etanólico e das frações hexânica, clorofórmica e acetanólica da própolis vermelha frente a bactérias dos gêneros *Pseudomonas* sp., *Enterococcus* sp., *Proteus* sp., *Salmonella* sp., *Escherichia* sp., *Enterobacter* sp., *Staphylococcus* sp. e *Klebsiella* sp., e fungos do gênero *Candida* sp., observou que as frações de própolis vermelha apresentaram excelente atividade antimicrobiana, principalmente aos microrganismos gram-positivos e *Candida albicans* (figura 13), destacando que a fração acetanólica é um promissor produto biotecnológico.

Figura 13. Atividade antimicrobiana das frações da própolis vermelha a 1%

MICRORGANISMOS	AMOSTRAS DE PRÓPOLIS			
	Extrato Bruto (EBEP)	Fração Hexânica (FHP)	Fração Clorofórmica (FCP)	Fração Acetanólica (FAP)
Gram-Positivos	<i>Staphylococcus aureus</i>	S	S	S
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	S	S	S
	<i>Staphylococcus</i> Coagulase negativo	S	S	S
Gram-negativos	<i>Escherichia coli</i>	R	R	S
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R	R	S
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	S	S	S
	<i>Proteus mirabilis</i>	S	S	S
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	R	R	S
Fungos	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 2785	S	S	S
	<i>Proteus vulgaris</i>	S	S	S
	<i>Shigella flexneri</i>	S	S	S
<i>Candida albicans</i>	S	S	S	S
<i>Candida albicans</i> ATCC 14053	S	S	S	S

S – Sensível, R- Resistente

Fonte: JUNIOR et al. (2012)

Outros estudos vêm buscando formas de avaliar a PV como alternativa natural em substituição a outros ionóforos. Ao estudar a PV em substituição à monensina sódica sobre os consumos e digestibilidades das dietas, desempenhos produtivos e parâmetros bioquímicos sanguíneos de cordeiros confinados em fase de crescimento, Baracho (2016) observou que a ureia, indicador sensível e imediato da ingestão proteica e do funcionamento renal, sofreu efeito dos tratamentos estudados, sendo observados menores valores nos animais tratados com 1,0g de Própolis Vermelha por dia, se comparados aos animais do tratamento controle.

Baracho (2016) explica que menos amônia absorvida pelas paredes do rúmen e convertida a ureia, diminuindo os valores desta no sangue, pode indicar uma maior eficiência de utilização do nitrogênio no rúmen, nos animais tratados com 1,0g de Própolis Vermelha por dia, mesmo não havendo diferença entre os GPD (Ganho de Peso Diário). Apesar de não encontrar melhorias produtivas tanto no uso da PV quanto da monensina nos outros parâmetros estudados, não recomendando seus usos nas condições do experimento realizado, o autor destaca a importância de experimentos futuros, testando níveis maiores da inclusão da Própolis Vermelha, principalmente na forma de ofertar a própolis aos animais, sendo os Blocos Multinutricionais uma alternativa altamente viável no âmbito biológico e econômico.



### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Campus de Engenharias e Ciências Agrárias – CECA, da Universidade Federal de Alagoas, localizado na BR 104 Norte, km 85, Rio Largo - AL, utilizando quatros ovinos Santa Inês machos, castrados, pesando em média 55 kg, providos de cânulas ruminais. O estudo foi realizado de acordo com os critérios relativos aos cuidados com animais experimentais, sendo o uso de animais fistulados no rúmen submetido ao comitê de ética e bem-estar animal da Universidade Federal da Paraíba (CEUA nº 9866190719).

Os animais permaneceram em uma área de capim elefante anão (figura 14), dividida em quatro piquetes de 30 m<sup>2</sup>, e receberam suplementação alimentar à base de milho e soja, com ou sem própolis vermelha (PV) como aditivo.

Figura 14. Animais em pastejo nos piquetes com capim elefante anão



Fonte: Autor (2018)

Foi adotado o sistema de pastejo com lotação intermitente alternada, com dois animais/piquete/período. Cada piquete foi provido de cochos para água e para a suplementação (figura 15a). A suplementação e o aditivo foram fornecidos aos animais em forma de blocos multinutricionais (BM) (figura 15b). Em cada período, com duração de 20 dias, dois animais obtiveram acesso a BM contendo PV em sua composição e dois animais tiveram acesso a BM sem PV.

Figura 15. Cochos para água (A) e animais consumindo suplementação e o aditivo em forma de BM (B)



Fonte: Autor (2018)

### 3.1. Confeção dos Blocos Multinutricionais

Os BM foram confeccionados segundo metodologia descrita pela Emepa (2015), tendo como fontes proteicas o farelo de soja e fontes energéticas o farelo de milho, além do melaço, ureia, minerais e agente solidificantes (tabela 1). Os BM do tratamento com própolis receberam 2 ml de extrato de PV purificada e concentrada, contendo o equivalente a 0,725 mg de isoflavonóides.

Tabela 1. Composição de blocos multinutricionais contendo ou não PV como aditivo natural

INGREDIENTES	Quantidades		
	Blocos c/ própolis (BMCP)	Blocos s/própolis (BMSP)	(%)
Ureia	0,100	0,100	5
Melaço	0,400	0,400	20
Sal Comum	0,200	0,200	10
Cal Hidratada	0,200	0,200	10
Supl. Mineral	0,120	0,120	6
Farelo de Soja	0,400	0,400	20
Farelo de Milho	0,520	0,520	26
Calcário	0,060	0,060	3
PV	20ml	-	-
TOTAL	2kg	2kg	100

PV: Extrato purificado e concentrado de Própolis vermelha, contendo o equivalente a 0,725 mg de isoflavonóides. Fonte: Autor (2022)

A confeção dos BMs foi executada no Núcleo de Produção Animal, no Campus de Engenharias e Ciências Agrárias – CECA, da Universidade Federal de Alagoas -

UFAL. Para a elaboração dos BMs, os ingredientes foram pesados em uma balança eletrônica, logo após colocados em uma betoneira para homogeneização e depois prensadas em prensa manual para obter a mistura compactada (figura 16).

Figura 16. Homogeneização (A), compactação (B) e produto final dos Blocos Multinutricionais (C)



Fonte: Autor (2018)

### 3.2. Extrato seco da Própolis vermelha

Para preparação do extrato seco de PV, amostras brutas de própolis foram fracionadas a tamanhos menores, colocadas em recipiente de vidro protegido da luz, e misturadas a uma solução de álcool etílico 70%. Diariamente, por quatro vezes, o extrato etanólico de própolis localizado acima do material ceroso decantado, foi retirado e filtrado em papel filtro. O volume total retirado foi misturado e armazenado em recipiente de vidro protegido da luz, para depois, ao final do quarto dia, ser colocado em estufa a 40° C para secar.

### 3.3. Estudo *ex situ*

O método utilizado para a coleta de material para análise de CH<sub>4</sub> e de AGCC foi a técnica de fermentação ruminal *ex situ* (micro-rúmen), adaptada a metodologia descrita por Perna Junior (2013). Essa técnica simula o ambiente ruminal em frascos de penicilina contendo conteúdo ruminal dos animais experimentais, a fim de estimar as concentrações de gás metano no rúmen no momento da coleta de conteúdo.



Os frascos de penicilina (50 mL) foram lavados manualmente com água, em seguida enxaguados com água destilada e secos em estufa de 65°C. Após a secagem, os frascos foram identificados e pesados em balança analítica. A coleta de conteúdo ruminal foi realizada nos tempos de 6, 12 e 18 horas do vigésimo dia de cada período. A amostragem de conteúdo ruminal consistiu de 300 mL de conteúdo ruminal, coletadas manualmente via cânula ruminal (figura 17). O conteúdo líquido e sólido foi retirado de três pontos diferentes (porção frontal, mediana e caudal), para melhor representação do rúmen e uma vez coletados foram homogeneizados com o auxílio de um Mixer por aproximadamente 20 segundos.

Figura 17. Coleta manual do líquido ruminal via cânula



Fonte: Autor (2018)

O conteúdo ruminal homogeneizado foi colocado nos frascos de penicilina, com auxílio de um tubo graduado, onde foi adicionado 30 mL de conteúdo ruminal. Pressionou-se o conteúdo coletado através de um funil para dentro do frasco de penicilina de 50 mL, com o auxílio de um bastão fino de vidro (figura 18a). Após a alocação do conteúdo dentro do frasco, os mesmos foram lacrados com rolhas de borracha e lacre de alumínio, com a ajuda de um alicate de recrave (figura 18b). Em seguida, foi realizada a substituição do ar atmosférico por dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (figura 18c). O processo de lavagem com CO<sub>2</sub> teve por finalidade a expulsão de todo ar atmosférico contido dentro do frasco, a fim de se evitar prejuízo à população microbiana anaeróbica.

Figura 18. Transferência do líquido ruminal para os frascos de penicilina (A), frascos lacrados com rolhas de borracha e lacre de alumínio (B) e substituição do ar atmosférico por dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (C)



Fonte: Autor (2018)

Foram utilizados um total de 24 frascos, divididos em 3 grupos de 8 frascos para cada hora coletada (6, 12 e 18 horas). Os frascos, após a “lavagem” com CO<sub>2</sub>, foram levados ao banho termostático (figura 19a), onde permaneceram a 39°C, por 30 minutos. Depois foram levados à panela de pressão com água fervente a aproximadamente 97°C (figura 19b). Em seguida, a panela foi fechada e, quando iniciada a pressão, cronometrou-se 15 minutos, a fim de bloquear a atividade microbiana na amostra por esterilização sob pressão e temperatura.

Figura 19. “Micro-rúmen” em banho termostático (A) e na panela de pressão (B)



Fonte: Autor (2018)

### 3.4. Mensurações do CH<sub>4</sub> e dos AGCC

Após o bloqueio da fermentação, foram realizadas mensurações do CH<sub>4</sub> e dos AGCC por cromatografia gasosa. As amostras oriundas dos frascos foram centrifugadas a 4000 rpm durante 30 minutos e em seguida injetadas no cromatógrafo a gás modelo CG – Master (figura 20), com Coluna Poparak n para mensurações do gás metano, e Coluna Carbowax 30m para mensurações dos ácidos graxos de cadeia curta. Após a leitura das amostras, os gráficos foram interpretados através do software Peaksimple, tendo como padrão o gás metano, previamente injetados a uma concentração de 55,1 mmol/L, e os ácidos acético, propiônico e butírico, previamente injetados a uma concentração de 10 mmol/L. A produção de CH<sub>4</sub> ex situ foi calculada pela diferença entre os resultados de pós e pré-incubação.

Figura 20. Cromatógrafo a gás modelo CG – Master



Fonte: Autor (2018)

### 3.5. Estudo estatístico

O efeito da adição de PV aos blocos multinutricionais sob a produção de CH<sub>4</sub> e de AGCC foi analisado por um delineamento em blocos casualizados com a hora da coleta nas parcelas e o tratamento nas subparcelas, com 4 repetições. Efetuou-se análise de variância e a comparação de médias foi feita pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico Sisvar® (Ferreira, 2010).

#### 4. RESULTADO E DISCUSSÃO

A composição bromatológica dos blocos multinutricionais e do capim elefante anão estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Composição bromatológica da dieta experimental, expressos em porcentagem na matéria seca

Alimento	% MS	%MM	%MO	%PB	%FDN	%FDA
<b>BM c/ Própolis</b>	84,23	36,68	63,32	24,33	31,86	15,01
<b>BM s/ Própolis</b>	83,48	35,92	64,08	24,54	32,19	13,78
<b>Capim elefante anão</b>	16,22	12,41	87,59	16,06	62,69	30,54

Nota: MS: matéria seca, MM: matéria mineral, MO: matéria orgânica, PB: proteína bruta, FDN: fibra em detergente neutro. FDA: fibra em detergente ácido. BM: bloco multinutricional. Fonte: Autor (2022)

Observou-se que não há grandes variações entres os valores das variáveis analisadas nos blocos com e sem a adição da PV, demonstrando que a própolis não interfere na composição química dos blocos multinutricionais.

Na tabela 3 está apresentado o efeito da inclusão da própolis vermelhas na dieta de ovinos como aditivo natural para a produção de gás metano.

Tabela 3. Efeito da inclusão da Própolis Vermelha na dieta sobre a produção de metano

Variável	Tratamentos			Hora			Probabilidade			
	Controle	Própolis	<sup>1</sup> EPM	06	12	18	<sup>1</sup> EPM	Trat.	Hora	Trat.*Hora
<b>Produção CH<sub>4</sub> (mmol/L)</b>	0.1138 <sup>a</sup>	0.1134 <sup>a</sup>	0.0014	0.1165 <sup>a</sup>	0.1126 <sup>a</sup>	0.1123 <sup>a</sup>	0.0021	0.8499	0.3380	0.5484

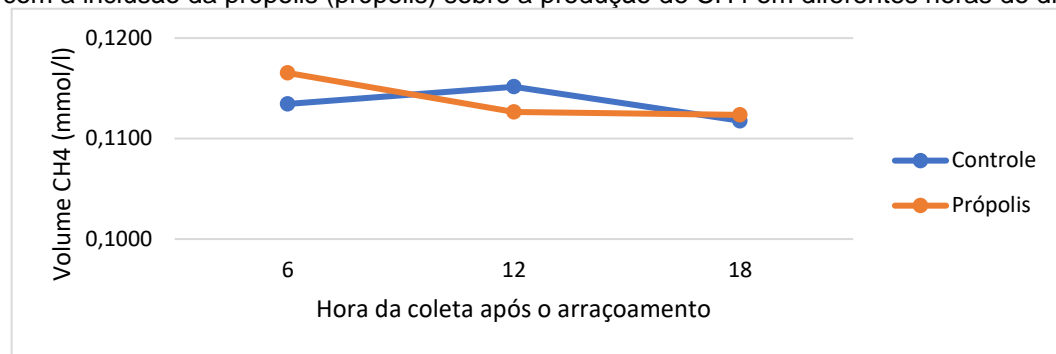
<sup>1</sup>EPM = Erro padrão da média, <sup>ab</sup>Letras diferentes na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Trat. = Tratamento. Fonte: Autor (2022)

Não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos para produção de metano. Em relação a hora da coleta, também não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) na produção de CH<sub>4</sub>, mostrando que a hora não influenciou significativamente na quantidade produzida de gás metano pelos animais avaliados.

Nas amostras coletadas 6 e 18 horas após o arraçoamento foi produzida em média 0,1165 e 0,1135 mmol/L de metano aos animais que receberam os blocos

multinutricionais com a inclusão da própolis, e produzida 0,1124 e 0,1118 mmol/L de CH<sub>4</sub> aos animais que receberam a dieta controle, respectivamente (figura 21).

Figura 21. Efeito dos Blocos Multinutricionais sem a própolis (controle) e dos Blocos Multinutricionais com a inclusão da própolis (própolis) sobre a produção de CH<sub>4</sub> em diferentes horas do dia



Fonte: Autor (2022)

Os micro-rúmens que receberam amostras das coletas de 12 horas produziram uma média de 0,1127 mmol/L para os animais que receberam os BM com a própolis vermelha e 0,1152 mmol/L para os animais que receberam o BM sem a própolis (figura 21). Nesse horário, apesar dos animais que consumiram BM com a adição da PV apresentarem uma produção menor de CH<sub>4</sub>, com uma diferença percentual de 2,21% entre os tratamentos, o resultado obtido não foi como o esperado.

Por possuir em sua composição um alto teor de isoflavonóides, compostos químicos fenólicos produzidos pelas plantas para desempenhar papel natural de defesa contra organismos patógenos, como bactérias e fungos, era esperado que a própolis vermelha reduzisse, significativamente, a quantidade produzida de CH<sub>4</sub> pelos animais estudados.

A redução de CH<sub>4</sub> utilizando própolis como um aditivo natural é baseada na ideia de inibição da motilidade bacteriana, principalmente as bactérias Gram-positivas presentes no rúmen, onde são as maiores produtoras de H<sub>2</sub> na fermentação ruminal, molécula percussora do gás metano. Esse pressuposto é mostrado em alguns estudos utilizando própolis como inibidoras do crescimento das bactérias Gram-positivas.

Segundo Mirzoeva et al. (1997), a própolis e alguns de seus componentes se caracterizam como ionóforos, atuando sobre a permeabilidade da membrana



citoplasmática bacteriana aos íons, causando a dissipação do potencial de membrana. Ao estudar a ação antibacteriana da própolis utilizando bactérias Gram-positivos (*Bacillus subtilis*) e bactérias Gram-negativos (*Escherichia coli* e *Rhodobacter sphaeroides*) como modelos em diferentes concentrações, Mirzoeva et al. (1997), observaram que a concentração de própolis que inibiu o crescimento da bactéria *B. subtilis* em 50% foi de 200 µg/ml e o que inibiu o crescimento de *E. coli* em 50% foi de 450 µg/ml, mostrando que a bactéria Gram-positiva (*B. subtilis*) foi relativamente mais sensível aos efeitos bactericidas da própolis do que a bactéria Gram-negativa (*E. coli*).

Daugusch (2007) avaliou a ação microbiana da Própolis vermelha em comparação a outros grupos de própolis (Própolis de *Populus sp.* e Própolis *B. dracunculifolia*). Ao estudar o efeito das substâncias bioativas presentes nas própolis, a PV apresentou uma ótima atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, bactéria Gram-positiva, em relação as outras própolis, porém foi observado que houve variação quanto ao potencial de inibição, mostrando a variação de flavonoides presentes nas amostras. Foi verificado também que as amostras com maior atividade antimicrobiana continham também maior quantidade de resina de *Dalbergia ecastophyllum*, leguminosa de onde a PV é oriunda.

A quantidade de extrato de Própolis vermelha aplicada nos Blocos Multinutricionais não atingiu o objetivo desejado, ou seja, as 2 ml de extrato de PV, contendo o equivalente a 0,145 mg de isoflavonóides não reduziu significativamente a produção de CH<sub>4</sub>. Esse resultado reforça a importância de mais estudos sobre diferentes dosagens da própolis em analogia a outros ionóforos. Essa ressalta também é discutida por Paula (2014) e Heimbach et al. (2014) ao avaliarem várias dosagens de própolis sobre as características fermentativas do rúmen.

Paula (2014) ao avaliar o efeito do extrato de Própolis vermelha sobre a fermentação ruminal *in vitro*, baseando-se na inclusão da própolis marrom testado por Stradiotti Júnior et al. (2004), de dietas com diferentes proporções de volumoso:concentrado, constatou que o extrato de Própolis vermelha como aditivo na alimentação de ruminantes não pode ter sua concentração baseada na concentração do extrato de própolis marrom, uma vez que a menor concentração utilizada (20%) causou drástica redução da fermentação ruminal e uma ação inibidora na microflora em 24 horas de incubação. O autor relatou a necessidade de mais trabalhos que estudem menores concentrações do extrato de Própolis vermelha *in vitro*, para

encontrar a concentração que atue de forma positiva na redução da produção de metano, sem causar morte dos microrganismos existentes no rúmen.

Heimbach et al. (2014), estudaram diferentes níveis de inclusão (5, 10, 15 e 20 g/kg MS) do resíduo da extração da própolis marrom para bovinos e ovinos por meio da técnica de produção de gás *in vitro*, e constataram resultados positivos em relação a produção de gás, sendo 8,52 g/kg MS e 5,53 g/kg MS para bovinos e ovinos, respectivamente. Porém os autores afirmam a necessidade de mais pesquisas acima da composição dos gases gerados, para que saiba o real efeito dos mesmos, para os animais e o meio ambiente.

Na tabela 4 estão apresentados os efeitos da inclusão da própolis vermelha na dieta de ovinos como aditivo natural para as variáveis C2, C3, C4 e AGCC.

Tabela 4. Produção de Ácidos Graxos de Cadeia Curta (proporções, totais e relação) em mmol/L, do conteúdo ruminal após suplementação com BM contendo ou não PV

Variável	Tratamento		EPM	Hora			EPM	Valor de P		
	Própolis	Controle		06 h	12 h	18 h		Trat	H	Trat * H
C2	70,50 A	70,62 A	3,08	69,47 a	72,71 b	69,50 a	1,14	0,7887	0,0155	0,0019
C3	23,26 B	20,57 A	0,85	22,25 a	21,47 a	22,02 a	2,24	0,0017	0,2947	0,9470
C4	11,57 A	11,06 A	0,71	11,07 a	11,82 a	11,06 a	0,63	0,1499	0,1970	0,1244
AGCC	105,33 B	102, 25 A	4,67	102,79 ab	106,01 b	102,58 a	7,07	0,0194	0,0332	0,0589
<b>C2:C3</b>	<b>3,04 A</b>	<b>3,44 B</b>	<b>0,02</b>	<b>3,15 a</b>	<b>3,17 a</b>	<b>3,40 a</b>	<b>0,03</b>	<b>0,0230</b>	<b>0,1306</b>	<b>0,4824</b>

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem ( $P < 0,05$ ) estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. C2= acetato; C3= propionato; C4= butirato; AGCC= ácidos graxos de cadeia curta totais; C2:C3= relação acetato:propionato; EPM = erro padrão da média; P = nível de significância. Obs: produção dos tratamentos independente da hora e produção nas horas independente dos tratamentos. Fonte: Autor (2022)

Não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) para a produção de acetato (C2) e butirato (C4) entre os tratamentos analisados. Em relação a hora da coleta, houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) apenas na produção de C2, mostrando que a hora influenciou na quantidade produzida de acetato pelos animais avaliados (tabela 4).

Na tabela 5 estão explícitos a interação entre os efeitos dos tratamentos e do horário de coleta sobre a concentração molar de C2.

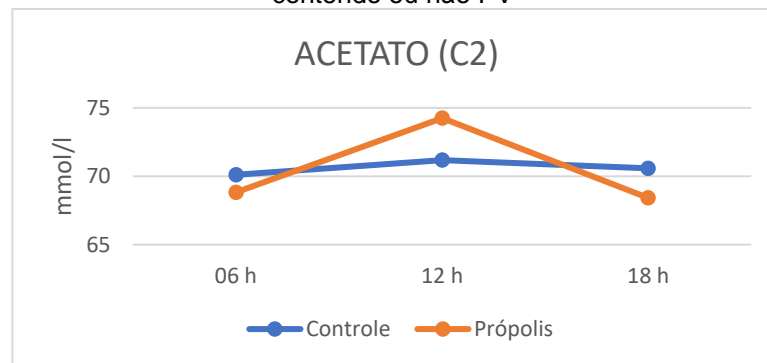
Tabela 5. Desdobramento da interação entre os efeitos dos tratamentos e do horário de coleta sobre a concentração molar de C2 no rúmen de ovinos recebendo BM contendo ou não PV

Tratamento	Hora de coleta			Valor de P
	6h	12h	18h	
Própolis	68,83bA	74,25aA	68,42bA	0,0019
Controle	70,11aA	71,18aB	70,58aA	

Médias seguidas de letras distintas (minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas) diferem pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Fonte: Autor (2022)

A produção de acetato às 12h, pico mais elevado de produção, foi influenciada pelo tratamento contendo PV (figura 22). Os micro-ruméns que receberam amostras das coletas de 12 horas produziram uma média de 74,25 mmol/L, para os animais que receberam os BM com a PV, e 71,18 mmol/L para os animais que receberam o BM sem a própolis vermelha (controle).

Figura 22. Produção de Acetato (C2) em mmol/L em cada horário de coleta, de ovinos recebendo BM contendo ou não PV



Fonte: Autor (2022)

Houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) para produção de Propionato (C3) entre os tratamentos (tabela 4). O tratamento com Blocos Multinutricionais contendo PV proporcionou um maior valor de C3, com média de 23,26 mmol/L, comparado ao controle (20,57 mmol/L) (figura 23).

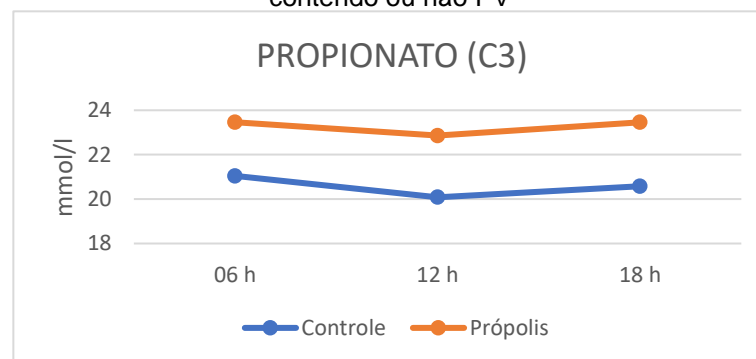
Lana & Russel (2001), evidenciam que os aditivos ionóforos destacam-se positivamente por selecionar os microrganismos ruminais, elevando a concentração de propionato, sendo esta uma das características utilizadas como rotina para avaliação de ionóforos e aditivos ruminais. O efeito esperado da própolis, utilizando

seu potencial antimicrobiano como ionóforo natural, é similar ao da monensina, agindo como bacteriostático, proporcionando uma seleção das espécies de microrganismos mais eficientes de forma a melhorar a fermentação, aproveitando melhor os nutrientes do alimento (BARACHO, 2016).

O uso de modificadores da fermentação ruminal, a exemplo de lipídios e ionóforos, resulta em aumentos da concentração molar de propionato no rúmen. Os ionóforos selecionam uma comunidade bacteriana que produz mais propionato e menos acetato e butirato (SPEARS, 1990).

Maior proporção de propionato é benéfica para o animal, pois além de ser mais energético em relação ao acetato, disponibiliza no rúmen menores quantidades de carbono e hidrogênio que seriam utilizados para a produção de poluentes (STRADIOTTI JR. et al., 2004). Segundo esses autores, o propionato é o principal substrato precursor de glicose pela gliconeogênese no fígado, em níveis ou fases de produção em que a glicose advinda da digestão do amido no intestino delgado não é suficiente para atender às exigências de produção animal.

Figura 23. Produção de Propionato (C3), mmol/L em cada horário de coleta, de ovinos recebendo BM contendo ou não PV



Fonte: Autor (2022)

Referente a produção total de ácidos graxos de cadeia curta, houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ), entre os tratamentos analisados (tabela 4). O tratamento com BM contendo a Própolis vermelha apresentou um aumento na produção total de AGCC (105,33 mmol/L), quando comparado ao tratamento controle (102,25 mmol/L). É possível observar que o maior pico de produção ocorreu nos micro-ruméns que receberam amostras das coletas de 12 horas, chegando a valores médios de 109,71 mmol/L, no tratamento com própolis (figura 24). Essa associação, provavelmente,

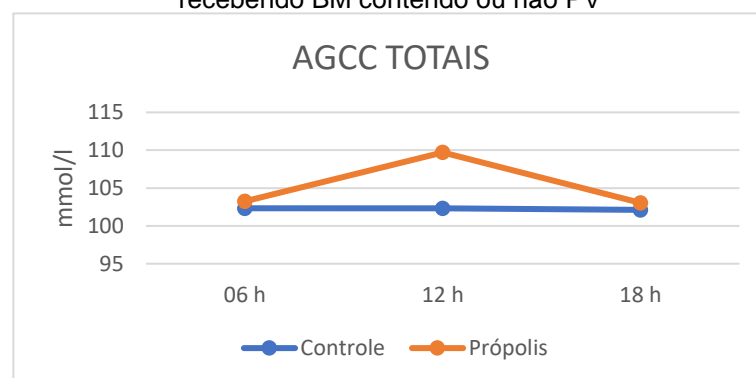
pode ser explicada por um maior nível de consumo por esse grupo de animais no período da manhã, associado ao efeito da própolis sobre a digestibilidade.

Estudos sobre a digestibilidade da própolis vermelha em ruminantes mostraram resultados satisfatórios. Ao avaliar a influência de níveis crescentes do extrato da Própolis Vermelha (PV) sobre a digestibilidade de ovinos confinados, Almeida et al. (2021) verificaram que a PV melhorou a digestibilidade a partir de 12,68 mL de extrato por dia.

Paixão et al. (2022), ao examinar o efeito de níveis crescentes (0, 7, 14, 21 e 28 mL), de extrato de própolis vermelha sobre a ingestão, digestibilidade, comportamento alimentar, parâmetros ruminais, parâmetros metabólicos e desempenho de cordeiros confinados, observaram que a inclusão de 21 mL/dia de extrato alcoólico de própolis vermelha resultou na redução das perdas de nitrogênio ruminal, além de promover um aumento no ganho médio diário e na eficiência alimentar dos cordeiros confinados.

Embora alguns estudos tenham demonstrado resultados satisfatórios quanto à ação da própolis vermelha nos parâmetros metabólicos dos ruminantes, é fundamental a realização de mais pesquisas com diferentes dosagens, a fim de estabelecer os níveis adequadas da PV e otimizar os benefícios observados. Silva et al. (2021), ao avaliarem a adição de 15 mL/dia de extrato de própolis vermelha em diferentes relações volumoso:concentrado na dieta de ovinos, observaram que não há associação entre a relação volumoso:concentrado e a adição de extrato de própolis em relação à dosagem administrada, não exercendo influência sobre o consumo, a digestibilidade, o comportamento ingestivo nem sobre os níveis de nitrogênio amoniacal ruminal dos animais avaliados.

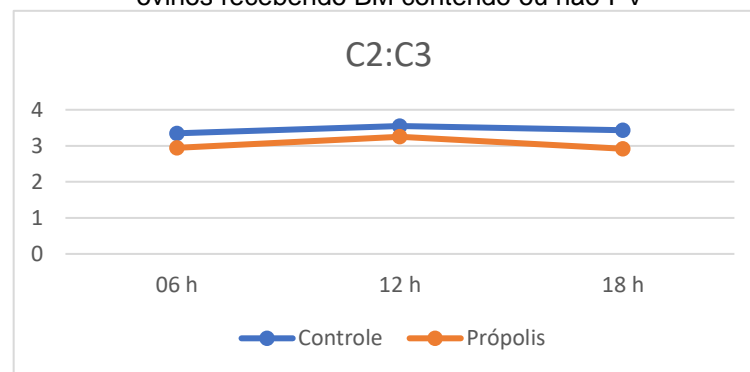
Figura 24. Produção de AGCC Totais (C2, C3 e C4) em mmol/L em cada horário de coleta, de ovinos recebendo BM contendo ou não PV



Fonte: Autor (2022)

O tratamento contendo PV como aditivo natural também proporcionou a redução da relação acetato:propionato (C2:C3), com valor médio de 3,04 mmol/L ( $P < 0,05$ ) para o tratamento com a adição da própolis, e de 3,44 mmol/L para o tratamento sem a incorporação própolis como aditivo (figura 25).

Figura 25. Relação entre a produção de acetato e propionato (C2:C3), em cada horário de coleta, de ovinos recebendo BM contendo ou não PV



Fonte: Autor (2022)

Utilizando dieta com monensina e própolis na alimentação de bubalinos, Prado et al. (2010) encontraram menor razão C2:C3 para a monensina (3,90), apesar de não ter diferido ( $P > 0,05$ ) das demais dietas. O produto à base de própolis apresentou a segunda menor relação (4,12). Esses resultados chegam a mostrar a mesma conclusão da aquela observada por Lana et al. (2007), que utilizando rações com diferentes níveis de óleo e própolis na alimentação de cabras, encontraram evidências de que a própolis pode atuar diminuindo a razão acetato:propionato.

Estudos realizados por Stradiotti Jr. et al. (2004), com bovinos, mostraram que o extrato da própolis marrom não afetou a proporção dos ácidos acético, propiônico e butírico. Entretanto, aumentou ( $P < 0,001$ ) a concentração total de AGCC. Em outra situação, mostrando-se contrário ao observado em vários estudos, embora não-significativo, o extrato de própolis chegou a aumentar em 15% a relação acetato:propionato, o que não é desejado quando se pretende obter uma maior eficiência energética (OLIVEIRA et al., 2013).

## 5. CONCLUSÃO

A inclusão da Própolis vermelha como um aditivo natural na dieta de ovinos recebendo Blocos Multinutricionais (BM) não proporcionou, significativamente, uma menor produção de CH<sub>4</sub>.

Embora não tenha alterado as concentrações de acetato e do butirato, a PV aumentou a proporção molar de propionato, contribuindo para a redução da relação acetato:propionato e para o aumento da concentração total dos AGCC, o que confere aos ruminantes maior possibilidade de se manterem e produzirem a partir dessa dieta.

Esses resultados indicam uma grande possibilidade da PV de ser utilizada como um aditivo natural. Para isso, importante salientar a necessidade de mais estudos para avaliar a dosagem ideal de própolis vermelha nos BM, em analogia a outros aditivos, visando não só as características fermentativas do rúmen, mas também sua viabilidade econômica, considerando a produção comercial de blocos multinutricionais aditivados com própolis vermelha.

## REFERÊNCIAS

- ACOSTA, A. P. **Suplementação de enzima celulolítica (xilanase) em dietas a base de silagem de cana de açúcar ou milho para novilhas leiteiras: fermentação ruminal e síntese de proteína microbiana.** 2018. 39 f. TCC (Graduação em Zootecnia) – Curso de Zootecnia, Faculdade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Agrárias, Dourados, 2018.
- ALMEIDA, G. H. **Utilização de blocos multinutricionais em diferentes sistemas de produção para cordeiros no semiárido brasileiro.** 2019. 100 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Curso de Zootecnia. Universidade Federal de Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Areia, 2019.
- ALMEIDA, V. V. S. PAIXÃO, T. R. OLIVEIRA, A. C. SILVA, J. W. D. SILVA, R. R. Consumo e digestibilidade de ovinos confinados recebendo extrato de própolis vermelha. **In: Congresso Brasileiro de Zootecnia, 30.ed. 2021, Manaus – AM. Anais...** Manaus: ZOOTECA, 2021.
- ALVES, K. L. G. C. A. **Diversidade bacteriana ruminal e eficiência de utilização de nitrogênio em novilhos nelore alimentados com diferentes teores e fontes de proteína na dieta.** 2019. 76 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Curso de Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2019.
- BARACHO, F. A. O. **Própolis vermelha de Alagoas como alternativa à monensina em dietas de ovinos em crescimento.** 2016. 42 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias, Rio Largo, 2016.
- BASTOS, E. M. A. F.; SIMONE, M.; JORGE, D. M.; SOARES, A. E. E.; SPIVAK, M. In vitro study of the antimicrobial activity of Brazilian própolis against *Paenibacillus larvae*. **Journal of Invertebrate Pathology, Marceline.** 97(3): 273-281, 2008.
- BERCHIELLI, T. T. PIRES, A. V. OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de ruminantes.** 2.ed. Jaboticabal: Funep, 2006. 583p.
- BURDOCK, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee própolis (propolis). **Food Chem. Toxicology.** 36: 347–363, 1998.
- CASTRO, M. L. CURY, J. A. ROSALEN, P. L. ALENCAR, S. M. IKEGAKI, M. DUARTE, S. KOO, H. Própolis do Sudeste e Nordeste do Brasil: Influência da Sazonalidade na Atividade Antibacteriana e Composição Fenólica. **Química Nova.** 30(7): 1512- 1516, 2007.
- CASTRO, T. B. S. FURTADO, D. A. NETO, J. P. L. CUNHA, M. G. G. SALES, A. T. SILVA, J. G. S. OLIVEIRA, L. R. Desempenho ingestivo de caprinos submetidos à suplementação alimentar com blocos multinutricionais com diferentes aglomerantes. **Tecnol. & Ciên. Agropec.** 11(2): 63-69, 2017.
- CHURCH, D. **Digestive physiology and nutrition of ruminants.** 2.ed. Digestive Physiology: Corvallis, 1979.
- COSTA, T. B. **Uso de aditivos em suplementos para bovinos recriados em pastagem.** 2015. 26 f. TCC (Graduação em Agronomia) – Curso de Agronomia,



Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, 2015.

DAUGSCH, A. **A própolis vermelha do nordeste do Brasil e suas características químicas e biológicas**. 2007. 133 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

Daugsch, A. Moraes, C. S. Fort, P. Park, Y. K. Brazilian Red Propolis - Chemical Composition and Botanical Origin. **Ecam**. 5(4): 435-441, 2008.

DEHORITY, B. A. **Rumen microbiology**. The Ohio State University, 1987. 125p.

DOMINGUEZ, M. G. ESCOBAR, A. Rumen manipulation for the improved utilization of tropical forages. **Animal Feed Science and Technology**. 69(2): 97-102, 1997.

EC - European Union. REGULAMENTO (CE) N.º 1831/2003 DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO de 22 de Setembro de 2003 relativo aos aditivos destinados à alimentação animal. **Official Journal of the European Union**. 2003. Disponível em: <<http://eurlex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=CELEX%3A32003R1831>>. Acesso em: 12 julho de 2019.

EMEPA. Blocos multinutricionais: Tecnologia aplicada para amenizar o efeito das estiagens na produção de carne e leite no semiárido. Folder técnico. **EMEPA**, João Pessoa-PB. 2013.

FIGUEIREDO, M. R. P. PIROVANI, D. B. BARROS, I. GODINHO, T. O. Levantamento de emissões e mitigação de gases de efeito estufa da pecuária bovina no espírito santo. **Incaper em Revista**. 13 e 14: 30-42, 2023.

GOMES, M. B. **Consumo, degradabilidade e padrão de fermentação ruminal de blocos multinutricionais confeccionados com subprodutos da agroindústria alagoana**. 2018. 49 f. TCC (Graduação em Zootecnia) – Curso de Zootecnia, Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias, Rio Largo, 2018.

GONÇALVES, M. F. MARTINS, J. M. S. OLIVEIRA, M. V. CARVALHO, C. Caires M. ANTUNES, M. M. FERREIRA, I. C. PEREIRA, C. F. OLIVALVES, L. C. Ionóforos na alimentação de bovinos. **Vet. Not**. 18(2): 131-146, 2012.

GOULARTE, S. R. ÍTAVO, L. C. V. SANTOS, G. T. ÍTAVO, C. C. B. F. OLIVEIRA, L. C. S. FAVARO, S. P. DIAS, A. M. TORRES JUNIOR, R. A. A. BITTAR, C. M. M. Ácidos Graxos de Cadeia Curta no rúmen de vacas alimentadas com diferentes teores de concentrado na dieta. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**. 63(6): 1479-1486, 2011.

HEIMBACH, N.S. ÍTAVO, C.C.B.F. ÍTAVO, L.C.V. FRANCO, G.L. LEAL, C.R.B. LEAL, E.S. SILVA, P.C.G., REZENDE, L.C. SILVA, J.A. Resíduo da extração de própolis marrom na dieta de ruminantes: digestibilidades e produção de gás *in vitro*. **Archivos de Zootecnia**, 63(242): 259-267, 2014.

HOBSON, P. N. STEWART, C. S. **The rumen microbial ecosystem**. 2.ed. London: Blackie Academic & Professional. 1997, 719p.

HUNGATE, R. E. SMITH, W. BAUCHOP, T. YU, I. RABINOWITZ, J. C. Formate as an intermediate in the rumen fermentation. **Journal of Bacteriology**. 102: 384-397, 1970.

KOZLOSKI, G. B. **Bioquímica dos ruminantes**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2002. 139p.

- KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. 1 ed. Santa Maria: UFSM. 2002, 140p.
- KUMAZAWA, S. HAMASAKA, T. NAKAYAMA, T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. **Food Chemistry**, 84(3): 329-339, 2004.
- LANA, R. D. P. RUSSELL, J. B. Efeitos da monensina sobre a fermentação e sensibilidade de bactérias ruminais de bovinos sob dietas ricas em volumoso ou concentrado. **Rev. Bras. Zootec.** 30: 254-260, 2001.
- LANA, R. P. CAMARDELLI, M. M. L. RODRIGUES, M. T. Óleo de soja e própolis na alimentação de cabras leiteiras: consumo de matéria seca e de nutrientes e parâmetros de fermentação ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**. 36(1): 191-197, 2007.
- LEOPOLDINO, W. M. **Efeito da monensina, lasalocida, própolis, acidez e lipídios sobre a perda de potássio e fermentação de populações de bactérias do rúmen**. 2004. 54 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.
- MACHADO, F. S. PEREIRA, L. G. R. GUIMARÃES JÚNIOR, R. LOPES, F. C. F. CHAVES, A. V. CAMPOS, M. M. MORENZ, M. J. F. **Emissões de metano na pecuária: conceitos, métodos de avaliação e estratégias de mitigação**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2011. 92 p.
- MARINO, C. T. MEDEIROS, S. R. **Aditivos alimentares na nutrição de bovinos de corte**. In: MEDEIROS, S. R. GOMES, R. C. BUNGENSTAB, D. J. Nutrição de bovinos de corte: fundamentos e aplicações. Brasília, DF: Embrapa, 2015. 12 p.
- MIRZOEVA, O. K. GRISHANIN, R. N. CALDER, P. C. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. **Microbiology Research**. 152(3): 239-246, 1997.
- NUNES, L. B. **Óleo essencial de caju (*Anacardium occidentale* L.) Na fermentação ruminal *in vitro* de dietas com diferentes relações volumoso:concentrado**. 2023. 39 f. TCC (Graduação em Zootecnia) – Curso de Zootecnia, Universidade Federal do Norte do Tocantins, Campus Universitário de Araguaína, Araguaína, 2023.
- OLIVEIRA, J. S. **Utilização da monensina e da própolis para manipulação e fermentação ruminal em bovinos**. 2005. 40 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Departamento em Zootecnia, Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.
- OLIVEIRA, J. S. ZANINE, A. M. SANTOS, E. M. Processo fermentativo, digestivo e fatores antinutricionais de nutrientes para ruminantes. **REDVET**. 3(2): 1-13, 2007.
- OLIVEIRA, J. S. ZANINE, A. M. SANTOS, E. M. uso de aditivos em ruminantes. **REDVET**. 6(11): 1-23, 2005.
- OLIVEIRA, V. S. SANTANA NETO, J. A. VALENÇA, R. L. Características químicas e fisiológicas da fermentação ruminal de bovinos em pastejo. **Revista Científica Eletrônica De Medicina Veterinária**. 20, 2013.
- OLIVEIRA, V. S. SANTANA NETO, J. A. VALENÇA, R. L. SANTOS, A. C. P. Estratégias para mitigar a produção de metano entérico. **Vet. Not**. 2(1): 39-70, 2017.

OSTRENSKY, A. ALMEIDA, Rodrigo. ANATER, A. RIBEIRO, D. R. NEGRO, Giancarlo. Aditivos para vacas leiteiras: o que já está bem consolidado e o que ainda precisamos compreender melhor? In: I SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO E NUTRIÇÃO DE GADO DE LEITE. IV SIMPÓSIO NACIONAL DE PRODUÇÃO E NUTRIÇÃO DE GADO DE LEITE. IX SIMPÓSIO MINEIRO DE NUTRIÇÃO DE GADO DE LEITE, 1., 2019. Anais eletrônicos [...]. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2019. Disponível em: <[https://eventos.ufu.br/sites/eventos.ufu.br/files/documentos/anais\\_simnutrileite\\_2019\\_0.pdf](https://eventos.ufu.br/sites/eventos.ufu.br/files/documentos/anais_simnutrileite_2019_0.pdf)>. Acesso em: 25 novembro de 2024.

PAIXÃO, T. R. ALMEIDA, V. V. S. OLIVEIRA, A. C. SILVA, A. P. G. SILVA, J. W. D. SANTOS, L. V. LIMA JÚNIOR, D. M. SILVA, R. R. Intake, digestibility, ruminal parameters, and performance in lamb fed with increasing levels of red propolis extract. **Trop Anim Health Prod.** 54(6):364, 2022.

PARK, Y. K. IKEGAKI, M. ALENCAR, S. M. Classificação da própolis brasileiras a partir de suas características físico-químicas e propriedades biológicas. **Mensagem Doce.** 58(1): 2-7, 2000.

PAULA, T. A. **Própolis Vermelha de Alagoas sobre a fermentação ruminal in vitro de dietas com diferentes proporções de volumoso:concentrado.** 2014. 39 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2014.

PEREIRA, D. S. FREITAS, C. I. A. FREITAS. M. O. MARACAJÁ, P. B. SILVA, J. B. A. SILVA, R. A. SILVEIRA, D. C. Histórico e principais usos da própolis apícola. **Agropecuária Científica no Semiárido.** 11(2): 01-21, 2015.

PEREIRA, E. M. O. EZEQUIEL, J. M. BIAGIOLI, B. FEITOSA, J. Determinação *In Vitro* do Potencial de Produção de Metano e Dióxido de Carbono de Líquido Ruminal Proveniente de Bovinos de Diferentes Categorias. **Arquivo Latino americano de Produção Animal.** 14: 120-127, 2006.

PERNA JUNIOR, F. **Efeito de ditivos alimentares sobre a produção de metano ruminal utilizando a técnica de fermentação ruminal ex situ (micro-rúmen), digestibilidade aparente total e excreção de nutrientes em bovinos.** 2013. 100f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

PINTO, M. M. F. GONÇALVES, J. S. SOUZA, I. T. N. S. BATISTA, N. V. MELO, V. L. L. M. FIRMINO, S. S. PINEDO, L. A. LIMA, P. O. Utilização do melão (*Cucumis melo* L.) na alimentação de ruminantes: Uma revisão. **Braz. J. of Develop.** 5(12): 31466-31481, 2019.

PINTO, M. S. FARIA, J. E. MESSAGE, D. CASSINI, S. T. A. PEREIRA, C. S. GIOSO, M. M. Efeito de extrato de própolis verde sobre bactérias patogênicas isoladas do leite de vacas com mastite. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science.** 38(6): 278-283, 2001.

POSSAMAI, A. P. S. LALA, B. PEREIRA, V. V. GOMES, L. C. SILVA, S. C. C. Modificadores da fermentação ruminal: uma revisão. **BioEng.** 5(2): 108-116, 2011.

PRADO, O. P. P. ZEOULA, L. M. MOURA, L. P. P. FRANCO, S. L. PRADO, I. N. JACOBI, G. Efeito da adição de própolis e monensina sódica na digestibilidade e

características ruminais em bubalinos alimentados com dieta à base de forragem. **R. Bras. Zootec.** 39(9): 2055-2065, 2010.

RIBEIRO, M. C. M. SAWAYA, A. C. H. F. PAULINO, N. DINIZ, S. N. MENDONÇA, S. RODRIGUES, N. C. BEGOÑA GIMÉNEZ CASSINA-LÓPEZ, B. G. Composição química, atividade biológica e segurança de uso da própolis vermelha. **Mensagem Doce.** 125, 2014.

RIVERA, A. R. BERCHIELLI, T. T. MESSANA, J. D. VELASQUEZ, P. V. FRANCO, A. V. M. FERNANDES, L. B. Fermentação ruminal e produção de metano em bovinos alimentados com feno de capim-tifton 85 e concentrado com aditivos. **R. Bras. Zootec.** 39(3): 617-624, 2010.

SALMAN, A. K. D. PAZIANI, S. F. SOARES, J. P. G. **Uso de aditivos na dieta de bovinos de corte.** Porto Velho, RO: Embrapa Rondônia, 2006. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/708265/1/doc101ionoforos.pdf>>. Acesso em: 10 julho de 2022.

SILVA, B. B. ROSALEN, P. L. CURY, J. A. IKEGAKI, M. SOUZA, V. C. ESTEVES, A. ALENCAR, S. M. Chemical composition and botanical origin of red propolis, a new type of Brazilian propolis. **Evidence-based Complement. Altern. Med.** 5: 313-316, 2008.

SILVA, J. F. C. LEÃO, M. I. **Fundamentos de nutrição dos ruminantes.** Piracicaba: Livroceres, 1979. 380p.

SILVA, Y. A. ALMEIDA, V. V. S. OLIVEIRA, A. C. FONSECA, R. S. SANTOS, P. RIBEIRO, J. S. SILVA, M. J. M. S. LIMA JÚNIOR, D. M. Can roughage: concentrate ratio affect the action of red propolis extract on sheep metabolism? **Trop Anim Health Prod.** 53(5):472, 2021.

SIMÕES-AMBROSIO, L. M. C. GREGÓRIO, L. E. SOUSA, J. P. B. FIGUEIREDO-RINHEL, A. S. G. AZZOLINI, A. E. C. S. BASTOS, J. K. LUCISANOVALIM, Y. M. The role of seasonality on the inhibitory effect of Brazilian green propolis on the oxidative metabolism of neutrophils. **Fitoterapia,** 81: 1102-1108, 2010.

SPEARS, J. W. Ionophores and nutrient digestion and absorption in ruminants. **Journal of Nutrition,** 120: 632-638, 1990.

STORM, A. C. KRISTENSEN, N. B. HANIGAN, M. D. A model of ruminal volatile fatty acid absorption kinetics and rumen epithelial blood flow in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science.** 95(6): 2919-2934, 2012.

STRADIOTTI JR, D. QUEIROZ, A. C. LANA, R. P. PACHECO, C. G. CAMARDELLI, M. M. L. C. DETMANN, E. EIFERT, E. C. NUNES, P. M. M. OLIVEIRA, M. V. M. Ação da própolis sobre a fermentação in vitro de diferentes alimentos pela técnica de produção de gases. **Revista Brasileira de Zootecnia.** 33(4): 1093-1099, 2004.

STUART, R. L. **Comparison of Bovatec to Rumensin for Feedlot Cattle.** Nutley, NJ: Department of Agriculture and Animal Health. Roche Chemical Division, Hoffmann-La Roche Inc., 1982.

SWENSON, M. J. REECE, W. O. **Dukes - Fisiologia dos animais domésticos.** Rio de Janeiro: Guanabara, 1996. 856p

VALADARES FILHO, S. C. PINA, D. S. **Nutrição de Ruminantes.** Jaboticabal: Funep, 2006. 583p.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2.ed. Cornell University Press, 1994.

WILLIAMS, A. G. Rumen holotrich ciliate protozoa. **Microbiol Rev.** 50(1): 25-49, 1986.

ZOTTI, C. A. PAULINO, V. T. **Metano na produção animal: emissão e minimização de seu impacto**. Ecologia de Pastagens, Curso de Pós-graduação em Produção Animal Sustentável, Instituto de Zootecnia, 2009. Disponível em: <<http://www.iz.sp.gov.br/artigo.php?id=119>>. Acesso em: 27 julho de 2022.